

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark
Office
Box PCT
Washington, D.C. 20231
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 29 September 2000 (29.09.00)	
International application No. PCT/JP00/00787	Applicant's or agent's file reference 661734
International filing date (day/month/year) 14 February 2000 (14.02.00)	Priority date (day/month/year) 19 February 1999 (19.02.99)
Applicant OHNOGI, Hiromu et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:



in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

18 August 2000 (18.08.00)



in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was

was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO,
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer

Antonia Muller

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP00/00787

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K31/122, A61P43/00, 1/16, 25/28, 3/10, 35/00,
A23L1/30, 2/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K31/122, A61P43/00, 1/16, 25/28, 3/10, 35/00
A23L1/30, 2/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CA (STN), REGISTRY (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO, 98/13328, A (Takara Shuzo Co., Ltd.), 02 April, 1998 (02.04.98) & AU, 9740330, A & EP, 941981, A1	1-3
X	WO, 98/39291, A (Takara Shuzo Co., Ltd.), 11 September, 1998 (11.09.98) & AU, 9861175, A & EP, 984001, A1	1-3
X	WO, 98/40346, A (Takara Shuzo Co., Ltd.), 17 September, 1998 (17.09.98) & AU, 9861177, A & EP, 976717, A	1-3
X	WO, 99/00349, A (Takara Shuzo Co., Ltd.), 07 January, 1999 (07.01.99) & AU, 9875516, A	1-3
PX	WO, 99/36383, A (Takara Shuzo Co., Ltd.), 22 July, 1999 (22.07.99) & AU, 9918903, A	1-3
EX	WO, 00/10560, A (Takara Shuzo Co., Ltd.), 02 March, 2000 (02.03.00) (Family: none)	1-2

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
28 April, 2000 (28.04.00)

Date of mailing of the international search report
16.05.00

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/00787

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☒ Claims Nos.: 1-3
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

Since the term "derivatives" is not clearly defined, it is unknown which compounds other than those particularly cited in the description fall within the category of the derivatives. Regarding "derivatives", therefore, the International Search has been practiced exclusively on those particularly cited in the description.

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/00787

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
EX	WO, 00/11021, A (Takara Shuzo Co., Ltd.), 02 March, 2000 (02.03.00) (Family: none)	1-2
A	Cancer Research, Vol. 54, (1994), Hideaki Tahara et al. "Fibroblasts Genetically Engineered to Secrete Interleukin 12 Can Suppress Tumor Growth and Induce Antitumor Immunity to a Murine Melanoma in vivo", p. 182-189	1-3
A	Diabetes, Vol. 45, (1996), Alan C. Moses et al. "Recombinant Human Insulin-Like Growth Factor I Increases Insulin Sensitivity and Improves Glycemic Control in Type II Dabetes", p. 91-100	1-3



P C T

E P



国際調査報告

(法 8 条、法施行規則第40、41条)

〔PCT 18条、PCT規則43、44〕

出願人又は代理人 の書類記号 6 6 1 7 3 4	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220) 及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 0 0 / 0 0 7 8 7	国際出願日 (日.月.年) 1 4 . 0 2 . 0 0	優先日 (日.月.年) 1 9 . 0 2 . 9 9
出願人 (氏名又は名称) 資酒造株式会社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条 (PCT 18条) の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 4 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☒ 請求の範囲の一部の調査ができない (第 I 欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している (第 II 欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第 III 欄に示されているように、法施行規則第47条 (PCT規則38.2(b)) の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から 1 カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 _____ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

、 ☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT 17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☐ 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2. ☒ 請求の範囲 1-3 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
「誘導体」について明確な定義がなされていないため、明細書に具体的に例示されたもの以外にどのようなものが誘導体に該当するかが不明である。したがって、「誘導体」に関し、明細書に具体的に例示されたもの以外については、国際調査を行っていない。
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。



A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl¹ A61K31/122, A61P43/00, 1/16, 25/28, 3/10, 35/00,
A23L1/30, 2/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl¹ A61K31/122, A61P43/00, 1/16, 25/28, 3/10, 35/00
A23L1/30, 2/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN), REGISTRY (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	WO, 98/13328, A (寶酒造株式会社) 02. 4月. 1998 (02. 04. 98) &AU, 9740330, A &EP, 941981, A1	1-3
X	WO, 98/39291, A (寶酒造株式会社) 11. 9月. 1998 (11. 09. 98) &AU, 9861175, A &EP, 984001, A1	1-3
X	WO, 98/40346, A (寶酒造株式会社) 17. 9月. 1998 (17. 09. 98)	1-3

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

28. 04. 00

国際調査報告の発送日

16.05.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

今村 玲 英 子



4C 8517

電話番号 03-3581-1101 内線 3452



C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
	&AU, 9861177, A &EP, 976717, A	
X	WO, 99/00349, A (資酒造株式会社) 07. 1月. 1999 (07. 01. 99) &AU, 9875516, A	1-3
PX	WO, 99/36383, A (資酒造株式会社) 22. 7月. 1999 (22. 07. 99) &AU, 9918903, A	1-3
EX	WO, 00/10560, A (資酒造株式会社) 02. 3月. 2000 (02. 03. 00) (ファミリーなし)	1-2
EX	WO, 00/11021, A (資酒造株式会社) 02. 3月. 2000 (02. 03. 00) (ファミリーなし)	1-2
A	Cancer Research, Vol. 54, (1994), Hideaki Tahara et al. "Fibroblasts Genetically Engineered to Secrete Interleukin 12 Can Suppress Tumor Growth and Induce Antitumor Immunity to a Murine Melanoma in vivo", p. 182-189	1-3
A	Diabetes, Vol. 45, (1996), Alan C. Moses et al. "Recombinant Human Insulin-Like Growth Factor I Increases Insulin Sensitivity and Improves Glycemic Control in Type II Diabetes", p. 91-100	1-3

PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
〔PCT36条及びPCT規則70〕

REC'D 02 MAR 2001

WIPO PCT

出願人又は代理人 の書類記号 661734	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知（様式PCT/ IPEA/416）を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JPO0/00787	国際出願日 (日.月.年) 14.02.00	優先日 (日.月.年) 19.02.99
国際特許分類 (IPC) Int. Cl ⁷ A61K31/122, A61P43/00, 1/16, 25/28, 3/10, 35/00, A23L1/30, 2/00		
出願人 (氏名又は名称) 資酒造株式会社		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 6 ページからなる。
- ☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)
この附属書類は、全部で ページである。

3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。
- I ☒ 国際予備審査報告の基礎
- II ☐ 優先権
- III ☒ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
- IV ☐ 発明の単一性の欠如
- V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
- VI ☒ ある種の引用文献
- VII ☐ 国際出願の不備
- VIII ☒ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 18.08.00	国際予備審査報告を作成した日 15.02.01	
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 今 村 玲 英 子	4 C 8 5 1 7
電話番号 03-3581-1101 内線 3452		

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に
 応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
 PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

☐ 明細書 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
 明細書 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 明細書 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 出願時に提出されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 PCT19条の規定に基づき補正されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

☐ 図面 第 _____ ページ/図、 出願時に提出されたもの
 図面 第 _____ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 図面 第 _____ ページ/図、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

Ⅲ. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成

1. 次に関して、当該請求の範囲に記載されている発明の新規性、進歩性又は産業上の利用可能性につき、次の理由により審査しない。

☐ 国際出願全体

☒ 請求の範囲 1-3の一部

理由：

- ☐ この国際出願又は請求の範囲 _____ は、国際予備審査をすることを要しない次の事項を内容としている（具体的に記載すること）。

- ☒ 明細書、請求の範囲若しくは図面（次に示す部分）又は請求の範囲 1-3 _____ の記載が、不明確であるため、見解を示すことができない（具体的に記載すること）。

「誘導体」について明確な定義がなされていないため、明細書に具体的に例示されたもの以外にどのようなものが誘導体に該当するかが不明である。

したがって、「誘導体」に関し、明細書に具体的に例示されたもの以外については、予備審査を行うことができない。

- ☐ 全部の請求の範囲又は請求の範囲 _____ が、明細書による十分な裏付けを欠くため、見解を示すことができない。

- ☒ 請求の範囲 1-3の一部 _____ について、国際調査報告が作成されていない。

2. ヌクレオチド又はアミノ酸の配列表が実施細則の附属書C（塩基配列又はアミノ酸配列を含む明細書等の作成のためのガイドライン）に定める基準を満たしていないので、有効な国際予備審査を行うことができない。

☐ 書面による配列表が提出されていない又は所定の基準を満たしていない。

☐ フレキシブルディスクによる配列表が提出されていない又は所定の基準を満たしていない。

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条（PCT35条(2)）に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性 (N)	請求の範囲	2	有
	請求の範囲	1, 3	無
進歩性 (IS)	請求の範囲	2	有
	請求の範囲	1, 3	無
産業上の利用可能性 (IA)	請求の範囲	1-3	有
	請求の範囲		無

2. 文献及び説明 (PCT規則70.7)

- 文献1: WO, 98/13328, A (寶酒造株式会社)
02. 4月. 1998 (02. 04. 98)
文献2: WO, 98/39291, A (寶酒造株式会社)
11. 9月. 1998 (11. 09. 98)
文献3: WO, 98/40346, A (寶酒造株式会社)
17. 9月. 1998 (17. 09. 98)
文献4: WO, 99/00349, A (寶酒造株式会社)
07. 1月. 1999 (07. 01. 99)

文献1には、4, 5-ジヒドロキシ-2-シクロペンテン-1-オンを含有する制がん剤が記載されており（請求の範囲16）、この化合物を含有する食品又は飲料についても記載されている（請求の範囲33）。

文献2には、4, 5-ジヒドロキシ-2-シクロペンテン-1-オンの誘導体に該当する化合物を含有する糖尿病治療剤、制がん剤が記載されている（請求の範囲21, 22）。

文献3には、4, 5-ジヒドロキシ-2-シクロペンテン-1-オンの誘導体に該当する化合物を含有する制がん剤が記載されている（請求の範囲3）。

文献4には、4, 5-ジヒドロキシ-2-シクロペンテン-1-オンの誘導体に該当する化合物を含有する制がん剤が記載されている（請求の範囲4）。

がん、糖尿病は、成長因子産生増強を要する疾患又はインターロイキン-12産生増強を要する疾患に該当するから、請求の範囲1, 3に係る発明は、新規性、進歩性を有しない。

文献1～4は、成長因子産生増強剤、インターロイキン-12産生増強剤としての用途について記載ないし示唆するものではないから、請求の範囲2に係る発明は、新規性、進歩性を有する。

VI. ある種の引用文献

1. ある種の公表された文書 (PCT規則70.10)

出願番号 特許番号	公知日 (日. 月. 年)	出願日 (日. 月. 年)	優先日 (有効な優先権の主張) (日. 月. 年)
WO, 99/36383, A[EX]	22. 07. 99	14. 01. 99	19. 01. 98
WO, 00/10560, A[EX]	02. 03. 00	10. 08. 99	18. 08. 98
WO, 00/11021, A[EX]	02. 03. 00	10. 08. 99	19. 08. 98

2. 書面による開示以外の開示 (PCT規則70.9)

書面による開示以外の開示の種類	書面による開示以外の開示の日付 (日. 月. 年)	書面による開示以外の開示に言及している 書面の日付 (日. 月. 年)
-----------------	------------------------------	--



1

2

Ⅶ. 国際出願に対する意見

請求の範囲、明細書及び図面の明瞭性又は請求の範囲の明細書による十分な裏付についての意見を次に示す。

「誘導体」について明確な定義がなされていないため、明細書に具体的に例示されたもの以外にどのようなものが誘導体に該当するかが不明である。
(なお、「誘導体」に関し、明細書に具体的に例示されたもの以外については、国際調査が行われていない。)



12T

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 661734	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP00/00787	International filing date (day/month/year) 14 February 2000 (14.02.00)	Priority date (day/month/year) 19 February 1999 (19.02.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 31/122, A61P 43/00, 1/16, 25/28, 3/10, 35/00, A23L 1/30, 2/00		
Applicant TAKARA SHUZO CO., LTD.		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of 8 sheets, including this cover sheet.
- ☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).
- These annexes consist of a total of _____ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☒ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☒ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☒ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 18 August 2000 (18.08.00)	Date of completion of this report 15 February 2001 (15.02.2001)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP00/00787

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application:*

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the claims:
pages _____, as originally filed
pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the drawings:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the sequence listing part of the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP00/00787

III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

- ☐ the entire international application.
- ☒ claims Nos. 1-3 See supp.sheet

because:

- ☐ the said international application, or the said claims Nos. _____
relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

- ☒ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. 1-3
are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

See supplemental sheet for continuation of Box III. 1.

- ☐ the claims, or said claims Nos. _____ are so inadequately supported
by the description that no meaningful opinion could be formed.

- ☒ no international search report has been established for said claims Nos. 1-3 See supp.sheet

2. A meaningful international preliminary examination cannot be carried out due to the failure of the nucleotide and/or amino acid sequence listing to comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions:

- ☐ the written form has not been furnished or does not comply with the standard.
- ☐ the computer readable form has not been furnished or does not comply with the standard.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

national application No.
PCT/JP 00/00787

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: III. 1.

Claims: parts of 1-3

There is no clear definition of "a derivative"; therefore, the applicable derivatives are unclear, except for the specific examples presented in the description.

It is, therefore, impossible to carry out an international preliminary examination on "derivatives" other than the specific examples given in the description.

Claims: parts of 1-3

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP 00/00787

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**1. Statement**

Novelty (N)	Claims	2	YES
	Claims	1, 3	NO
Inventive step (IS)	Claims	2	YES
	Claims	1, 3	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-3	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Document 1: WO, 98/13328, A (Takara Shuzo Co., Ltd.), 2 April 1998 (02.04.98)

Document 2: WO, 98/39291, A (Takara Shuzo Co., Ltd.), 11 September 1998 (11.09.98)

Document 3: WO, 98/40346, A (Takara Shuzo Co., Ltd.), 17 September 1998 (17.09.98)

Document 4: WO, 99/00349, A (Takara Shuzo Co., Ltd.), 7 January 1999 (07.01.99)

Document 1 discloses carcinostatic agents containing 4,5-dihydroxy-2-cyclopenten-1-one (Claim 16), and also discloses foods and drinks containing this compound (Claim 33).

Document 2 discloses carcinostatic agents and therapeutic agents for diabetes which contain compounds which are derivatives of 4,5-dihydroxy-2-cyclopenten-1-one (Claims 21 and 22).

Document 3 discloses carcinostatic agents containing a compound which is a derivative of 4,5-dihydroxy-2-cyclopenten-1-one (Claim 3).

Document 4 discloses carcinostatic agents containing a compound which is a derivative of 4,5-dihydroxy-2-cyclopenten-1-one (Claim 4).

Cancer and diabetes are diseases which require an

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP 00/00787

increase in production of a growth factor or require increased production of interleukin-12; therefore, Claims 1 and 3 are not novel and do not involve an inventive step.

Documents 1-4 do not disclose or suggest application for increasing the production of growth factors or increasing production of interleukin-12; therefore, Claim 2 is novel and involves an inventive step.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP00/00787

VI. Certain documents cited

1. Certain published documents (Rule 70.10)

<u>Application No. Patent No.</u>	<u>Publication date (day/month/year)</u>	<u>Filing date (day/month/year)</u>	<u>Priority date (valid claim) (day/month/year)</u>
WO,99/36383,A[EX]	22 July 1999 (22.07.1999)	14 January 1999 (14.01.1999)	19 January 1998 (19.01.1998)
WO,00/10560,A[EX]	02 March 2000 (02.03.2000)	10 August 1999 (10.08.1999)	18 August 1998 (18.08.1998)
WO,00/11021,A[EX]	02 March 2000 (02.03.2000)	10 August 1999 (10.08.1999)	19 August 1998 (19.08.1998)

2. Non-written disclosures (Rule 70.9)

<u>Kind of non-written disclosure</u>	<u>Date of non-written disclosure (day/month/year)</u>	<u>Date of written disclosure referring to non-written disclosure (day/month/year)</u>
---------------------------------------	--	--

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP 00/00787

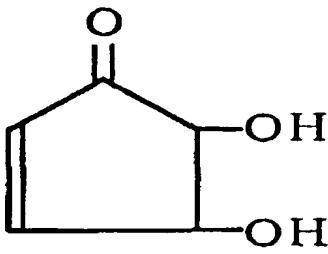
VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

There is no clear definition of "a derivative"; therefore, the applicable derivatives are unclear, except for the specific examples presented in the description.

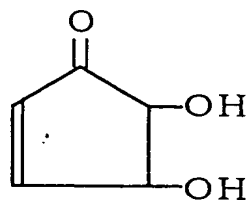
(Note that the international search report applies only to the derivatives given as specific examples in the description.)



<p>(51) 国際特許分類7 A61K 31/122, A61P 43/00, 1/16, 25/28, 3/10, 35/00, A23L 1/30, 2/00</p>	A1	<p>(11) 国際公開番号 WO00/48586</p> <p>(43) 国際公開日 2000年8月24日 (24.08.00)</p>		
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top; border: none;"> <p>(21) 国際出願番号 PCT/JP00/00787</p> <p>(22) 国際出願日 2000年2月14日 (14.02.00)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平11/42236 1999年2月19日 (19.02.99) JP 特願平11/108499 1999年4月15日 (15.04.99) JP 特願平11/264539 1999年9月17日 (17.09.99) JP</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 寶酒造株式会社(TAKARA SHUZO CO., LTD.)(JP/JP) 〒612-8061 京都府京都市伏見区竹中町609番地 Kyoto, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてののみ) 大野木宏(OHNOGI, Hiromu)(JP/JP) 〒617-0002 京都府向日市寺戸町渡川16 寶酒造社宅A-406号 Kyoto, (JP) 明山香織(AKIYAMA, Kaori)(JP/JP) 〒612-8073 京都府京都市伏見区下板橋町598-1 寶酒造下板橋寮 Kyoto, (JP) 富永隆生(TOMINAGA, Takanari)(JP/JP) 〒520-0242 滋賀県大津市本堅田4-22-2-204 Shiga, (JP) 西山英治(NISHIYAMA, Eiji)(JP/JP) 〒524-0102 滋賀県守山市水保町1411-7 Shiga, (JP) 務 華康(WU, Hua-Kang)(CA/JP) 〒520-2133 滋賀県大津市野郷原1-4-3 シャロム瀬田西107 Shiga, (JP)</p> </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top; border: none;"> <p>巽 容子(TATSUMI, Yoko)(JP/JP) 〒616-8396 京都府京都市右京区嵯峨小倉山山本町1番地 Kyoto, (JP) 佐川裕章(SAGAWA, Hiroaki)(JP/JP) 〒525-0025 滋賀県草津市西渡川2丁目12-1 ハーモバレス草津503号 Shiga, (JP) 加藤郁之進(KATO, Ikunoshin)(JP/JP) 〒611-0028 京都府宇治市南陵町1-1-150 Kyoto, (JP)</p> <p>(74) 代理人 青山 葆, 外(AOYAMA, Tamotsu et al.) 〒540-0001 大阪府大阪市中央区城見1丁目3番7号 IMPビル 青山特許事務所 Osaka, (JP)</p> <p>(81) 指定国 AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM)</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p> </td> </tr> </table>			<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP00/00787</p> <p>(22) 国際出願日 2000年2月14日 (14.02.00)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平11/42236 1999年2月19日 (19.02.99) JP 特願平11/108499 1999年4月15日 (15.04.99) JP 特願平11/264539 1999年9月17日 (17.09.99) JP</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 寶酒造株式会社(TAKARA SHUZO CO., LTD.)(JP/JP) 〒612-8061 京都府京都市伏見区竹中町609番地 Kyoto, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてののみ) 大野木宏(OHNOGI, Hiromu)(JP/JP) 〒617-0002 京都府向日市寺戸町渡川16 寶酒造社宅A-406号 Kyoto, (JP) 明山香織(AKIYAMA, Kaori)(JP/JP) 〒612-8073 京都府京都市伏見区下板橋町598-1 寶酒造下板橋寮 Kyoto, (JP) 富永隆生(TOMINAGA, Takanari)(JP/JP) 〒520-0242 滋賀県大津市本堅田4-22-2-204 Shiga, (JP) 西山英治(NISHIYAMA, Eiji)(JP/JP) 〒524-0102 滋賀県守山市水保町1411-7 Shiga, (JP) 務 華康(WU, Hua-Kang)(CA/JP) 〒520-2133 滋賀県大津市野郷原1-4-3 シャロム瀬田西107 Shiga, (JP)</p>	<p>巽 容子(TATSUMI, Yoko)(JP/JP) 〒616-8396 京都府京都市右京区嵯峨小倉山山本町1番地 Kyoto, (JP) 佐川裕章(SAGAWA, Hiroaki)(JP/JP) 〒525-0025 滋賀県草津市西渡川2丁目12-1 ハーモバレス草津503号 Shiga, (JP) 加藤郁之進(KATO, Ikunoshin)(JP/JP) 〒611-0028 京都府宇治市南陵町1-1-150 Kyoto, (JP)</p> <p>(74) 代理人 青山 葆, 外(AOYAMA, Tamotsu et al.) 〒540-0001 大阪府大阪市中央区城見1丁目3番7号 IMPビル 青山特許事務所 Osaka, (JP)</p> <p>(81) 指定国 AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM)</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP00/00787</p> <p>(22) 国際出願日 2000年2月14日 (14.02.00)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平11/42236 1999年2月19日 (19.02.99) JP 特願平11/108499 1999年4月15日 (15.04.99) JP 特願平11/264539 1999年9月17日 (17.09.99) JP</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 寶酒造株式会社(TAKARA SHUZO CO., LTD.)(JP/JP) 〒612-8061 京都府京都市伏見区竹中町609番地 Kyoto, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてののみ) 大野木宏(OHNOGI, Hiromu)(JP/JP) 〒617-0002 京都府向日市寺戸町渡川16 寶酒造社宅A-406号 Kyoto, (JP) 明山香織(AKIYAMA, Kaori)(JP/JP) 〒612-8073 京都府京都市伏見区下板橋町598-1 寶酒造下板橋寮 Kyoto, (JP) 富永隆生(TOMINAGA, Takanari)(JP/JP) 〒520-0242 滋賀県大津市本堅田4-22-2-204 Shiga, (JP) 西山英治(NISHIYAMA, Eiji)(JP/JP) 〒524-0102 滋賀県守山市水保町1411-7 Shiga, (JP) 務 華康(WU, Hua-Kang)(CA/JP) 〒520-2133 滋賀県大津市野郷原1-4-3 シャロム瀬田西107 Shiga, (JP)</p>	<p>巽 容子(TATSUMI, Yoko)(JP/JP) 〒616-8396 京都府京都市右京区嵯峨小倉山山本町1番地 Kyoto, (JP) 佐川裕章(SAGAWA, Hiroaki)(JP/JP) 〒525-0025 滋賀県草津市西渡川2丁目12-1 ハーモバレス草津503号 Shiga, (JP) 加藤郁之進(KATO, Ikunoshin)(JP/JP) 〒611-0028 京都府宇治市南陵町1-1-150 Kyoto, (JP)</p> <p>(74) 代理人 青山 葆, 外(AOYAMA, Tamotsu et al.) 〒540-0001 大阪府大阪市中央区城見1丁目3番7号 IMPビル 青山特許事務所 Osaka, (JP)</p> <p>(81) 指定国 AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM)</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>			
<p>(54)Title: REMEDIES</p> <p>(54)発明の名称 治療剤</p> <div style="text-align: center; margin: 20px 0;">  <div style="position: absolute; left: 635px; top: 695px;">(I)</div> </div> <p>(57) Abstract Remedies or preventives for diseases with a need for the reinforcement of the production of growth factor and/or diseases with a need for the reinforcement of the production of interleukin-12, characterized by containing as the active ingredient a compound selected from among 4,5-dihydroxy-2-cyclopenten-1-one represented by formula (I), 4-hydroxy-2-cyclopenten-1-one and derivatives thereof.</p>				

(57)要約

下記式 (I) で表される 4, 5-ジヒドロキシー-2-シクロペンテン-1-オン、4-ヒドロキシー-2-シクロペンテン-1-オン及びそれらの誘導体から選択される化合物を有効成分として含有することを特徴とする成長因子産生増強を要する疾患及び／又はインターロイキン-12産生増強を要する疾患の治療剤又は予防剤。



(I)

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE	アラブ首長国連邦	DM	ドミニカ	KZ	カザフスタン	RU	ロシア
AG	アンティグア・バーブーダ	DZ	アルジェリア	LC	セントルシア	SD	スーダン
AL	アルバニア	EE	エストニア	LI	リヒテンシュタイン	SE	スウェーデン
AM	アルメニア	ES	スペイン	LK	スリ・ランカ	SG	シンガポール
AT	オーストリア	FI	フィンランド	LR	リベリア	SI	スロヴェニア
AU	オーストラリア	FR	フランス	LT	リトアニア	SK	スロヴァキア
AZ	アゼルバイジャン	GA	ガボン	LV	ラトヴィア	SL	シエラ・レオネ
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB	英国	LU	ルクセンブルグ	SN	セネガル
BB	バルバドス	GD	グレナダ	LV	ラトヴィア	SZ	スワジランド
BE	ベルギー	GE	グルジア	MA	モロッコ	TD	チャード
BF	ブルキナ・ファソ	GH	ガーナ	MC	モナコ	TG	トーゴ
BG	ブルガリア	GM	ガンビア	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BJ	ベナン	GN	ギニア	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BR	ブラジル	GR	ギリシャ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア共和国	TR	トルコ
BY	ベラルーシ	GW	ギニア・ビサウ	ML	マリ	TT	トリニダード・トバゴ
CA	カナダ	HR	クロアチア	MN	モンゴル	TZ	タンザニア
CF	中央アフリカ	HU	ハンガリー	MR	モーリタニア	UA	ウクライナ
CG	コンゴ	ID	インドネシア	MW	マラウイ	UG	ウガンダ
CH	スイス	IE	アイルランド	MX	メキシコ	US	米国
CI	コートジボワール	IL	イスラエル	MZ	モザンビーク	UZ	ウズベキスタン
CM	カメルーン	IN	インド	NE	ニジェール	VN	ヴェトナム
CN	中国	IS	アイスランド	NL	オランダ	YU	ユーゴスラヴィア
CR	コスタ・リカ	IT	イタリア	NO	ノルウェー	ZA	南アフリカ共和国
CU	キューバ	JP	日本	NZ	ニュージーランド	ZW	ジンバブエ
CY	キプロス	KE	ケニア	PL	ポーランド		
CZ	チェコ	KG	キルギスタン	PT	ポルトガル		
DE	ドイツ	KP	北朝鮮	RO	ルーマニア		
DK	デンマーク	KR	韓国				

明 細 書

治療剤

5 発明の分野

本発明は細胞成長因子の産生増強を要する疾患に有効な医薬、製剤又は飲食品に関する。

発明の背景

10 成長因子は微量で細胞の成長・増殖を促進する一群の物質であり、増殖因子とも呼ばれ、細胞の増殖・伸長・肥大・分化等の制御を行っている。成長因子の生理機能としては、成長促進作用、インスリン様作用、同化作用、骨形成作用、細胞増殖促進作用、神経栄養因子様作用、エリスロポエチン様作用、子宮内発育促進作用、腎血流増加・腎細胞保護作用、免疫増強作用等が知られており、成長ホルモン不応症、糖尿病、異化状態の改善、骨粗しょう症、組織修復を必要とする疾患、神経変性疾患、貧血、子宮内発育不全、腎不全、免疫不全症等の疾患への適応が期待されている。

成長因子の疾患への適応は、通常は成長因子を外部より投与する方法で行われるが、成長因子を大量に得ることは困難である。またペプチド性成長因子は遺伝子操作により調製することが可能であるが、得られた成長因子は感受性が低い場合が多く、そのため大量投与を必要とし、その結果として大量投与による、発熱や食欲不振等を始めとする様々な副作用を伴うことが知られている。

部分肝切除を受けた肝臓は、速やかに再生し、もとのサイズになる。この肝再生因子の本体は、長年不明であったが、劇症肝炎患者の血漿中に肝細胞増殖因子 (hepatocyte growth factor : HGF) が見出され、その患者血漿から、単離、精製された [Gohda, E. et al. J. Clin. Invest., 88:414—419 (1988)]。さらに、ヒトHGFのcDNAもクローニングされ、HGFの1次構造も明らかにされた [Miyakawa, K. et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., 163:967—973 (1989)]。また、細胞の運動性を亢進させるscatter factor (SF) および、腫

瘍細胞障害因子であるtumor cytotoxic factor (TCF) とHGFが同一物質であることも明らかになった [Weidner, K. M. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88:7001-7005 (1991); Shima, N. et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., 180:1151-1158 (1991)]。

5 HGFは肝細胞だけでなく胆管上皮細胞、腎尿細管上皮細胞、胃粘膜細胞など多くの上皮細胞の増殖を促進させる。また、上皮細胞の運動性の亢進や血管新生、上皮細胞の管腔形成で見られるような形態形成を誘導し、HGFは極めて多彩な生理活性を示す多機能活性物質である。つまり、HGFは様々な臓器において、その臓器の障害を修復する際の上皮細胞の増殖を促進し、運動性の亢進や血管新
10 生などの形態形成の誘導等を行う。

 HGFは肝細胞増殖作用、タンパク合成促進作用、胆汁うっ滞改善作用、さらには薬剤による腎障害の予防作用などを示す。これらのことから、HGFは重症肝炎、肝硬変および肝内胆汁うっ滞の治療薬として期待されている。しかしながら、HGFそのものを治療薬として実用化するには至っていない。さらに、遺
15 伝子治療でHGFの遺伝子を導入する方法も試みられているが、不必要な時期、場所で作用することによる副作用により、これも、実用化には遠い。

 ヒトの知的機能、記憶、感情、行動などの精神活動の維持には神経細胞が主要な役割を担っている。これら精神活動の基になっている神経細胞の分化、生存、機能発現には、それぞれの神経細胞に特異的な神経性栄養因子が必要であると考えられるが、推定の域をでない。唯一、存在および機能が明らかにされているのは、神経成長因子（以下NGFと略す）である。NGFは前脳基底部の大細胞性コリン作動性神経細胞の神経性栄養因子であることから、アルツハイマー型痴呆
20 症との関連が注目されている [ファルマシア, Vol. 22, No. 2, 147-151 (1986); 老年精神医学, Vol. 3, No. 6, 751-758 (1986)]。

25 アルツハイマー型痴呆症とは発育障害、巣症状、下肢の強直拘攣、てんかん様発作などの臨床を伴い、老人性プラーク、アルツハイマー原線維変化などの症理学的所見を見る疾患であり、老人性痴呆の一病型である。近年の高齢化社会で増加の傾向が見られ、重大な社会的関心が払われているが、これといった症状の改善法、治療法が見つかっていない。

アルツハイマー型痴呆症患者の脳には、マイネルト基底核を中心とする前脳基底部に顕著な変性、コリンアセチル基転移酵素 (CAT) 活性の著しい低下が認められている [Annu. Rev. Neurosci., 3:77 (1980)]。1985年にラット脳を用いた研究で、NGFが脳のこの部位での神経性栄養因子であることが明らかにされ [EMBO J., 4:1389 (1985)]、NGFと本疾患との関連が注目された。またハンチントン舞踏病患者の脳の線条体では、GABA作動性神経細胞の脱落と共にコリン作動性神経細胞の脱落が著しく、NGFが線条体の内在性コリン作動性神経細胞にも作用することが明らかにされ [Science, 234:1341 (1986)]、本疾患がNGFと関連している可能性が指摘されている。さらにまた、各種の神経疾患のモデルとなり得るラットなどの動物でNGFの効果が研究され、ラットでは神経細胞の変性が顕著になる以前にNGFを脳内投与すれば、変性を食い止めることができ、CAT活性の低下も防げることが報告されている [J. Neurosci., 6:2155 (1986); Brain Res., 293:305 (1985); Science, 235:214 (1986); Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 83:9231 (1986)]。また末梢の交感神経支配組織および脳でNGFが生合成されていること、このNGFの生合成に末梢組織あるいは脳組織の間質細胞である線維芽細胞あるいはアストログリア細胞が各々重要な役割を担っていることが証明されている [J. Biol. Chem., 259:1259 (1984); Biochem. Biophys. Res. Commun., 136:57 (1986)]。また、この線維芽細胞やアストログリア細胞の産生するNGFの抗原性、分子量、等電点、生物活性は、従来よく研究されていた顎下腺NGFと同一であることが明らかにされている。また線維芽細胞 (L-M細胞) およびアストログリア細胞の培養液に種々の神経伝達物質を加えると、カテコラミン (ノルエピネフリン、エピネフリン、ドーパミン) がNGF合成促進効果を示すことが見出されている [J. Biol. Chem., 261:6039 (1986); FEBS Lett., 208:258 (1986)]。

このように、NGFが神経性栄養因子として作用する部位が変性するこれらの神経疾患において、NGFは変性を食い止める治療薬として用いることができるのではないかと期待される。また脳血管障害、脳腫瘍、脳炎、頭部外傷変性疾患、麻酔薬物中毒など脳神経細胞が一旦変性に陥れば、生涯回復することがなく、その結果、知的機能低下、記憶障害のみならず、感情障害、行動異常など様々な障

害を引き起こすが、神経線維には可塑性があり、損傷を受けると、その付近の健全な線維から発芽が起こり、障害されたシナプスに変わって新しいシナプスが形成されるので、この時NGFが神経機能の修復再生を促す治療剤として用いることができるのではないかと期待される。

5 しかしながら、NGFを各種神経疾患の治療に応用しようとした場合、NGFはNGFを必要とする神経細胞の極く近傍に達していなければならないし、中枢神経疾患の場合も脳細胞の患部にNGFを送り届けなければならないが、血管系を通してNGFを脳内に送り込むことはできない。なぜならば、脳内の血管内皮細胞は、互いに密着結合で結合しており（脳血液関門という）、水、ガス、脂溶性物質以外の物質の血液から脳組織への移行は制限を受けているからであり、高
10 分子物質である蛋白質（NGFも含む）はまったく脳血液関門を通ることが出来ないからである。このNGFを直接脳内に外科的手法を用いて投入することは、現在の技術をもってしても危険が大き過ぎる。

15 成長因子の適応疾患を治療又は予防するためには、成長因子を投与する代わりに成長因子を生体内で誘導する方法があり、この場合は成長因子の投与に起因する異常な副作用を伴うことなく、安全に疾患の治療又は予防が可能になる。

 例えばHGFを外から投与するのではなく、生体内で任意に誘導できるのであれば、肝炎、肝硬変、肝内胆汁うっ滞等のHGF発現増強を必要とする疾患の治療及び予防に有効である。

20 また脳内のNGF産生細胞にNGFを誘導させる物質を到達させることにより、インビトロで得られた成果を治療薬として応用することができる。

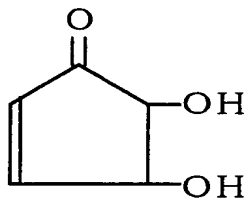
発明の目的

25 本発明の目的は天然物由来の、安全性の高い成長因子産生増強能及び／又はインターロイキン-12産生増強能を有する化合物を提供し、成長因子産生増強を要する疾患の治療又は予防に有用な医薬や飲食品を提供することにある。

発明の要旨

 本発明を概説すれば、本発明の第1の発明は下記式（I）で表される4，5-

ジヒドロキシ-2-シクロペンテン-1-オン、4-ヒドロキシ-2-シクロペンテン-1-オン及びそれらの誘導体から選択される化合物を有効成分として含有することを特徴とする成長因子産生増強を要する疾患及び／又はインターロイキン-12産生増強を要する疾患の治療剤又は予防剤に関する。



(I)

本発明の第2の発明は、式(I)で表される4,5-ジヒドロキシ-2-シクロペンテン-1-オン、4-ヒドロキシ-2-シクロペンテン-1-オン及びそれらの誘導体から選択される化合物を有効成分として含有することを特徴とする成長因子産生増強剤及び／又はインターロイキン-12産生増強剤に関する。

本発明の第3の発明は、式(I)で表される4,5-ジヒドロキシ-2-シクロペンテン-1-オン含有物、4-ヒドロキシ-2-シクロペンテン-1-オン含有物、4,5-ジヒドロキシ-2-シクロペンテン-1-オン誘導体含有物、及び4-ヒドロキシ-2-シクロペンテン-1-オン誘導体含有物から選択されるものを含有、希釈及び／又は添加してなる成長因子産生増強用及び／又はインターロイキン-12産生増強用食品、又は成長因子産生増強用及び／又はインターロイキン-12産生増強用飲料に関する。

本発明者らは、式(I)で表される4,5-ジヒドロキシ-2-シクロペンテン-1-オン、4-ヒドロキシ-2-シクロペンテン-1-オン及びそれらの誘導体から選択される化合物が成長因子産生増強作用及び／又はインターロイキン-12産生増強作用を有し、成長因子の産生増強、インターロイキン-12の産生増強に有用であることを見出し、本発明を完成した。

図 1 : 加熱温度と 4 H C P 生成量の関係を示す図である。

図 2 : 加熱時間と 4 H C P 生成量の関係を示す図である。

図 3 : p H と 4 H C P 生成量の関係を示す図である。

図 4 : 加熱温度と 4 A C P 生成量の関係を示す図である。

5 図 5 : 加熱温度と 4 G C P 生成量の関係を示す図である。

図 6 : 加熱時間と 4 A C P 生成量の関係を示す図である。

図 7 : 加熱時間と 4 G C P 生成量の関係を示す図である。

図 8 : p H と 4 A C P 生成量の関係を示す図である。

図 9 : p H と 4 G C P 生成量の関係を示す図である。

10 図 10 : 加熱時間と 4, 5 - ジヒドロキシー 2 - ペンテナール生成量の関係を示す図である。

発明の詳細な説明

以下、本発明を具体的に説明する。

15 本発明で使用する 4, 5 - ジヒドロキシー 2 - シクロペンテン-1-オン (以下、単にシクロペンテノンと称する) の製造方法はいかなる方法でも良く、化学合成法 [カーボハイドレートリサーチ (Carbohydrate Res.)、第 247 巻、第 217 ~ 222 頁 (1993)、ヘルベチカ キミカ アクタ (Helvetica Chimica Acta)、第 55 巻、第 2838 ~ 2844 頁 (1972)] で合成して

20 も良く、またウロン酸、ウロン酸誘導体、ウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物、ウロン酸及び／又はウロン酸誘導体を含有する糖化合物含有物から選択される少なくとも 1 種の物の加熱処理物中に生成するシクロペンテノン、その精製物を使用することもでき、本発明ではシクロペンテノンを含むこれらの加熱処理物、その部分精製物及び精製物を使用できる。なおこれらは W

25 O 98 / 13328 号公報に記載され、該公報記載の内容は参考としてここに組入れる。

またシクロペンテノン含有物とは特に限定はないが、シクロペンテノンを含む上記加熱処理物、その部分精製物が本発明の第 3 の発明において特に好適に使用することができる。

本発明において4, 5-ジヒドロキシー-2-シクロペンテン-1-オン誘導体（以下、単にシクロペンテノン誘導体と称す）とはシクロペンテノンの誘導体であって、成長因子産生増強能及び／又はインターロイキン-12産生増強能を有するものであれば限定はないが、下記式（I I）～（V）で表されるシクロペンテノン誘導体が例示される。

本発明で使用する4-ヒドロキシー-2-シクロペンテン-1-オン（以下、単に4 H C Pと称する）の製造方法はいかなる方法でもよく、化学合成法で調製しても良い。その公知の合成法としては、タナカ（Tanaka, T.）らの方法〔テトラヘドロン（Tetrahedron）、第32巻、第1713頁（1976）〕、ナラ（Nara, M.）らの方法〔テトラヘドロン、第36巻、第3161頁（1980）〕、及びジル（Gill, M.）らの方法〔オーストラリアン ジャーナル オブ ケミストリー（Aust. J. Chem.）、第34巻、第2587頁（1981）〕が挙げられる。これらの方法は合成段階が多く複雑であり、収率も低く、効率の良い製造方法ではない。4-シクロペンテン-1, 3-ジオンを塩化セリウム（III）及び水素化ホウ素ナトリウムで還元することによって、1段階で、高収率で4 H C Pが得られる。

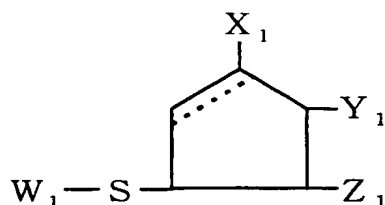
またペントース、ペントース誘導体、ペントースを含有する化合物、及びペントース誘導体を含有する化合物から選択される少なくとも1種の物の加熱処理物中に生成する4 H C P、その精製物を使用することもでき、本発明では4 H C Pを含有するこれらの加熱処理物、その部分精製物及び精製物が使用できる。なおこれらはWO 99/36383号公報に記載され、該明細書記載の内容は参考としてここに組入れる。

また4 H C P含有物とは特に限定はないが、4 H C Pを含有する上記加熱処理物、その部分精製物が本発明の第3の発明において特に好適に使用することができる。

また4 H C P誘導体とは4 H C Pの誘導体であって、成長因子産生増強能及び／又はインターロイキン-12産生増強能を有するものであれば限定はないが、下記式（V I）、（V I I）で表されるその誘導体が例示される。またペントース、ペントース誘導体、ペントースを含有する化合物、及びペントース誘導体を

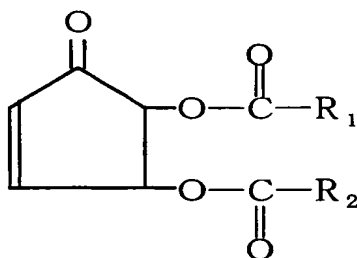
含有する化合物から選択される少なくとも1種の物の加熱処理物中に生成する4-
 (9-アデニル)-2-シクロペンテン-1-オン(以下、4ACPと称
 す)、4-(9-グアニル)-2-シクロペンテン-1-オン(以下、4GCP
 と称す)、それらの精製物を使用することもでき、本発明では4ACP及び/
 又は4GCPを含有するこれらの加熱処理物、その部分精製物及び精製物が使用
 できる。

なお本発明はこれらのシクロペンテノン誘導体含有物、4HCP誘導体含有物
 も使用できる。またシクロペンテノン、シクロペンテノン誘導体、4HCP、4
 HCP誘導体のそれぞれの光学活性体若しくはそれらの塩を使用することができ
 る。



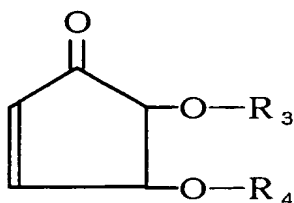
(I I)

(式中、5員環内の点線で示した結合子は当該5員環が、二重結合を有するシク
 ロペンテン環、或いはそれが飽和されたシクロペンタン環のいずれでもよいこと
 を意味する。そして、シクロペンテン環の場合、 X_1 はOH、 Y_1 は=O、 Z_1 はH
 であり、他方シクロペンタン環の場合、 X_1 は=O、 Y_1 はOH、 Z_1 はOHである。
 また W_1 はSH基含有化合物からSH基を除いた残基である)



(I I I)

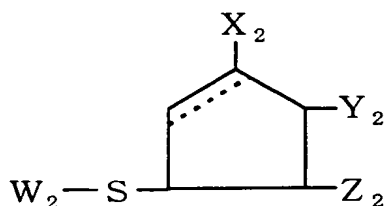
(式中、 R_1 、 R_2 は同じであっても異なっても良く、水素、脂肪族基、芳香族基又は芳香脂肪族基である)



(IV)

5

(式中、 R_3 、 R_4 は同じであっても異なっても良く、水素、脂肪族基、芳香族基又は芳香脂肪族基である。但し、 $R_3 = R_4 = H$ の場合を除く)



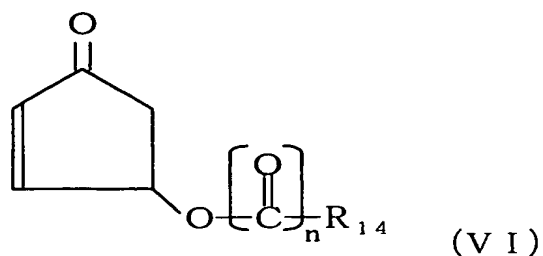
(V)

10

[式中、5員環内の点線で示した結合子は、当該5員環が、二重結合を有するシクロペンテン環、或いはそれが飽和されたシクロペンタン環のいずれでもよいことを意味する。そして、シクロペンテン環の場合、 X_2 は OR_5 、 Y_2 は $=O$ 、 Z_2 は H であり、他方シクロペンタン環の場合、 X_2 は $=O$ 、 Y_2 は OR_6 、 Z_2 は OR_7 であり、 R_5 は R_8 、又は $-(CO)-R_9$ 、 R_6 は H 、 R_{10} 、又は $-(CO)-R_{11}$ 、 R_8 は H 、 R_{12} 、又は $-(CO)-R_{13}$ (R_8 、 R_9 、 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 、 R_{13} は同じであっても異なってもよく、脂肪族基、芳香族基、又は芳香脂肪族基であり、 R_9 、 R_{11} 、 R_{13} は H でもよい) を意味する。但し $R_6 = R_7 = H$ を除く。また W_2 は SH 基含有化合物から SH 基を除いた残基である]

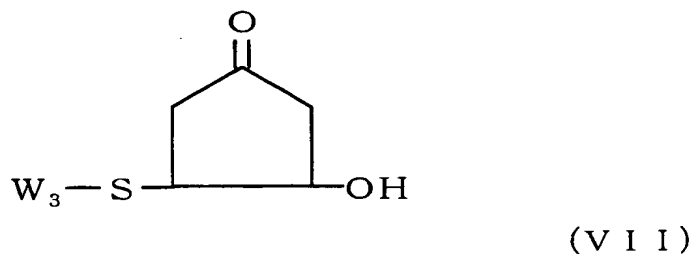
15

20



(式中、 R_{14} は脂肪族基、芳香族基、又は芳香脂肪族基であり、 n は0又は1である。但し、 $n=0$ で R_{14} がHの場合を除く)

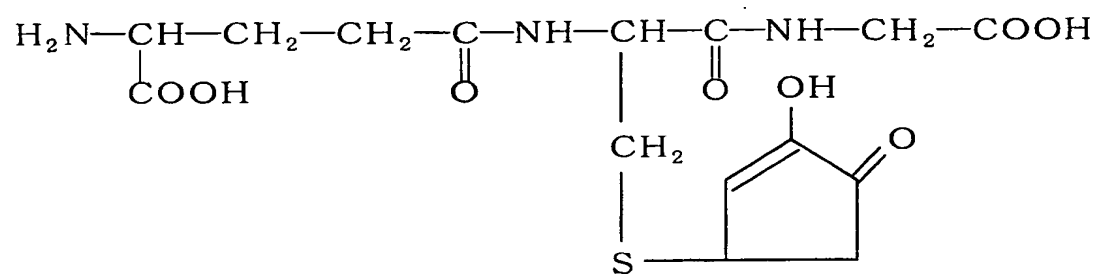
5



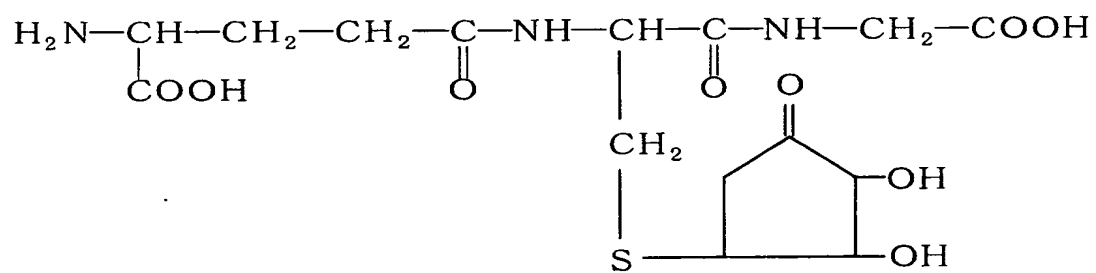
(式中、 W_3 はSH基含有化合物からSHを除いた残基である)

式 (I I) で表されるシクロペンテノン誘導体についてはWO 98/3929
 1号公報に詳細に記載されており、当該誘導体はシクロペンテノンとSH基含有
 化合物、例えばシステイン、グルタチオン等とを反応させることにより得ること
 ができる。またシクロペンテノン含有物にSH基含有化合物を添加することによ
 って、当該シクロペンテノン誘導体含有物を得ることができる。当該誘導体の例
 としては下記式 (V I I I) ~ (X I) で表される化合物がある。なお以下、式
 (V I I I) で表される化合物を単にGMと称す。

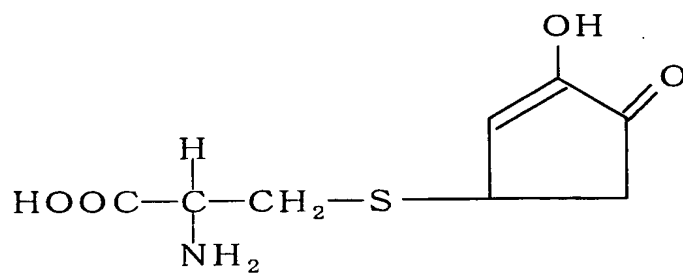
15



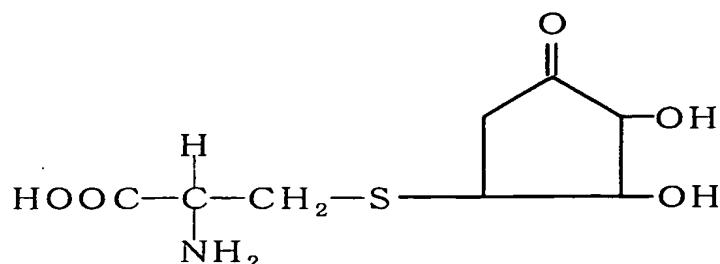
(VIII)



(IX)

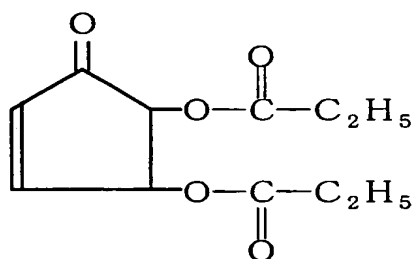


(X)

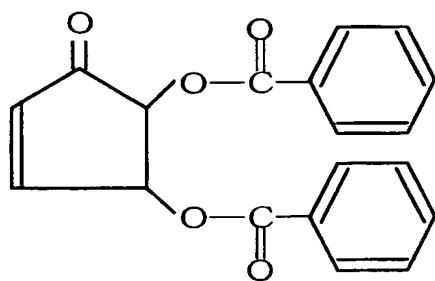


(X I)

式 (I I I) で表されるシクロペンテノン誘導体についてはWO 98 / 4 0 3
 4 6 号公報、P C T / J P 9 9 / 0 4 3 2 3 号明細書に詳細に記載されており、
 シクロペンテノンと脂肪族基、芳香族基又は芳香脂肪族基を有するカルボン酸及
 び／又はその反応性誘導体とを、同時又は順次反応させることにより得ることが
 できる。当該シクロペンテノン誘導体としては、ジアセチルシクロペンテノン、
 ジベンゾイルシクロペンテノン、ジヘキサノイルシクロペンテノン、ジミリス
 ト
 イルシクロペンテノン、ジオクタノイルシクロペンテノン、ジ-3-オクテノ
 イ
 ルシクロペンテノン、ジブチリルシクロペンテノン、ジデカノイルシクロペン
 テ
 ノン、ジバレリルシクロペンテノン、ジプロピオニルシクロペンテノン、ジ-2
 -
 ヘキセノイルシクロペンテノン、ジイソブチリルシクロペンテノン、ジメトキ
 シ
 アセチルシクロペンテノン、メトキシフマリルシクロペンテノン、メトキシマ
 レ
 イルシクロペンテノン等が例示される。下記式 (X I I) にジプロピオニルシ
 ク
 ロペンテノンの構造を示す。また下記式 (X I I I) にジベンゾイルシクロペ
 ン
 テノンの構造を示す。

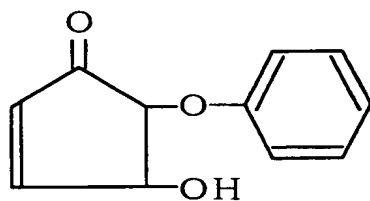


(X I I)

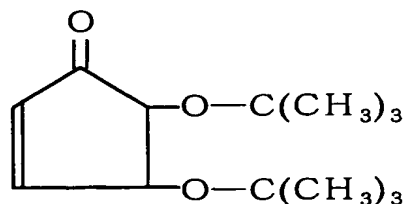


(XIII)

式 (IV) で表されるシクロペンテノン誘導体についてはWO 99/0034
 9号公報に詳細に記載されており、シクロペンテノンと脂肪族基、芳香族基又は
 5 芳香脂肪族基を有するアルコール及び／又はその反応性誘導体とを、同時又は順
 次反応させることにより得ることができる。当該シクロペンテノン誘導体として
 は4-ベンジルシクロペンテノンエーテル、5-ベンジルシクロペンテノンエー
 テル、4, 5-ジベンジルシクロペンテノンエーテル、4-t-ブチルシクロペ
 ンテノンエーテル、5-t-ブチルシクロペンテノンエーテル、4, 5-ジ-t
 10 -ブチルシクロペンテノンエーテルが例示される。5-ベンジルシクロペンテ
 ノンエーテルの構造を下記式 (XIV) に、4, 5-ジ-t-ブチルシクロペンテ
 ノンエーテルの構造を下記式 (XV) に示す。

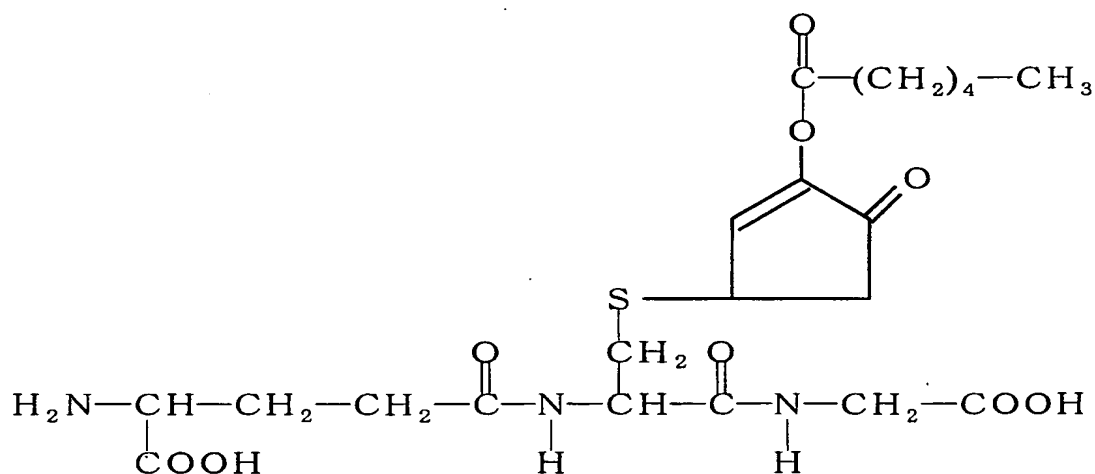


(XIV)

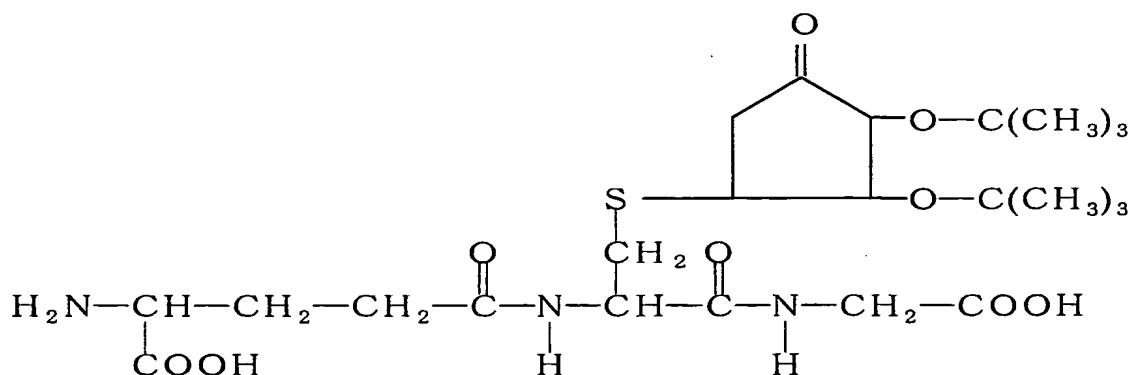


(XV)

式 (V) で表されるシクロペンテノン誘導体については PCT/J P 99/0
4 3 2 4 号明細書に詳細に記載されており、式 (I I I) で表される化合物又は
式 (I V) で表される化合物と S H 基含有化合物、例えばシステイン、グルタチ
オン等とを反応させることにより得ることができる。当該シクロペンテノン誘導
体含有物を得ることができる。当該誘導体の例としては下記式 (X V I)、(X
V I I) でそれぞれ表される化合物がある。



(X V I)

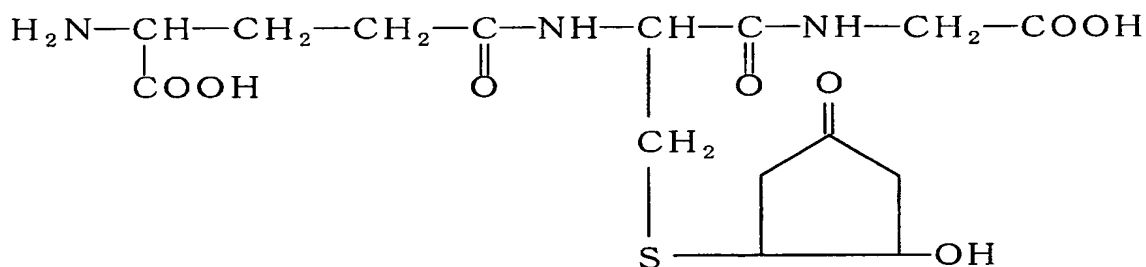


(X V I I)

式 (V I) で表される 4 H C P 誘導体は、4 H C P と脂肪族基、芳香族基又は

芳香脂肪族基を有するカルボン酸及び／又はその反応性誘導体とを反応させること、又は4HCPと脂肪族基、芳香族基又は芳香脂肪族基を有するアルコール及び／又はその反応性誘導体と反応させることにより得ることができる。

式(VII)で表される4HCP誘導体はWO99/36383号公報に記載のように、4HCPとSH基含有化合物、例えばシステイン、グルタチオン等とを反応させることにより得ることができる。また4HCP含有物にSH基含有化合物を添加することによって、当該4HCP誘導体含有物を得ることができる。当該誘導体の例としては下記式(XVIII)で表される化合物がある。



(XVIII)

本発明における産生増強を要する成長因子とは細胞の成長を促進する活性を有していれば特に限定はないが、HGF、NGF、上皮成長因子、ミルク由来成長因子、線維芽細胞成長因子、脳由来線維芽細胞成長因子、酸性線維芽細胞成長因子、血小板由来成長因子、血小板塩基性タンパク、結合組織活性化ペプチド、インスリン様増殖因子、コロニー形成刺激因子、エリスロポエチン、スロンボポエチン、T細胞成長因子、インターロイキン類（例えば、インターロイキン2、3、4、5、7、9、11、15）、B細胞成長因子、軟骨由来因子、軟骨由来成長因子、骨由来成長因子、骨格成長因子、内皮細胞成長因子、内皮細胞由来成長因子、眼由来成長因子、精巢由来成長因子、セルトリ細胞由来成長因子、乳腺刺激因子、脊髄由来成長因子、マクロファージ由来成長因子、リサイクル間葉成長因子、形質転換増殖因子- α 、形質転換増殖因子- β 、ヘパリン結合性EGF様増殖因子、アンフィレグリン、SDGF、ベータセルリン、エピレグリン、ニュー

レグリン1、2、3、血管内皮増殖因子、ニューロトロフィン、BDNF、NT-3、NT-4、NT-5、NT-6、NT-7、グリア細胞株由来神経栄養因子、幹細胞因子、ミッドカイン、プレイオトロフィン、Ephrin、Angiopoietin、アクチビン、腫瘍壊死因子、インターフェロン類等が例示される。

HGFは肝細胞増殖作用、タンパク合成促進作用、胆汁うっ滞改善作用、さらには薬剤による腎障害の予防作用などを示す。またHGFのmRNAは脳、腎臓、肺等でも合成されており、肝実質細胞、腎細尿管細胞、表皮細胞等にも増殖活性がある、中胚葉性細胞成長因子である。従って、肝細胞増殖因子の産生を増強することにより、肝炎、重症肝炎、肝硬変および肝内胆汁うっ滞、慢性腎炎、肺炎、創傷の治療又は予防を行うことができる。

NGFは神経細胞の生存や機能を維持したり、NGFの濃度勾配に従って神経細胞を伸長させたりする内因性の成長因子であり、NGFの産生を増強することにより、アルツハイマー病等の老人痴呆症や末梢神経障害、脳血管障害、脳腫瘍、脳尖、頭部外傷変性疾患、麻酔薬物中毒などによる神経機能の修復再生を要する疾患の治療又は予防を行うことができる。

インスリン様増殖因子は種々の細胞に多彩な生理作用を有し、インスリン様増殖因子の産生を増強することによって、II型糖尿病（インスリン非依存性）や成長障害疾患（小人症）の治療又は予防を行うことができる。またインスリン様増殖因子は坐骨神経障害において坐骨神経の再生を促進することから、筋萎縮性側索硬化症の治療又は予防を行うことができる。

なおシクロペンテノン、シクロペンテノン誘導体、4HCP及び4HCP誘導体はインターロイキン-12産生増強能を示し、シクロペンテノン、シクロペンテノン誘導体、4HCP及び4HCP誘導体から選択される化合物を有効成分とするインターロイキン-12産生増強剤が提供される。当該製剤はそれ自体公知の方法により、製剤化することができ、インターロイキン-12産生増強を要する疾患の治療剤又は予防剤として使用することができる。

インターフェロン γ （IFN γ ）はT細胞（Th1）のT細胞レセプター（TCR）が抗原提示細胞（APC）等により刺激されたとき産生されるが、その際、

さらにAPCから産生されるインターロイキン-12 (IL-12) によって産生が誘導される。つまり、IL-12産生を増強することにより、IFN γ の産生を誘導し、誘導されたIFN γ はウイルス、真菌感染、および癌疾患等において細胞傷害性T細胞、NK細胞、マクロファージ等の細胞性免疫を活性化させ、

5 生体防御能の増強に働く。一方、アレルギー疾患において発症の原因とされているTh2の活性化を抑制することにより、喘息、花粉症、アトピー性皮膚炎等の治療および予防に有効と考えられている。

更に、シクロペンテノン、シクロペンテノン誘導体、4HCP及び4HCP誘導体は筋肉増強作用を有し、これらの化合物、該化合物含有物を有効成分として

10 筋肉増強剤が提供できる。当該化合物含有物としては、特に限定はないが、例えばペントースを含有する化合物であるDNAを加熱処理することによって得られる4HCPを高含有するDNA加熱処理物を使用することができる。

なお筋肉増強作用については、坐骨神経を圧挫し、萎縮した筋肉が機能面と量で回復する程度を評価することができる。このモデル実験での障害からの回復は

15 神経の再生によるところが大きいと報告されている。ビタミンB1やB12には鶏胎知覚神経節や脊髄の組織培養実験において神経繊維の伸びを著明に促進し、坐骨神経圧挫モデルにおいてもヒラメ筋などの有意な筋肉量の回復効果が報告されている (Folia pharmacol. Japon. 74:721-734 (1978))。

しかしながら当該DNA加熱処理物が上記のようなモデル実験において有効であることは報告されておらず、さらにインスリン様増殖因子や、HGFやNGFの産生を増強したり、筋肉の増強や機能の回復する効果については報告されていない。すなわち本発明者らが見出した様に、当該DNA加熱処理物はインスリン様増殖因子や、HGFやNGFの産生を増強することから、筋萎縮性側索硬化症

20 だけではなく、インスリン様増殖因子が必要とされる成長障害、骨粗しょう症、糖尿病、腎不全等の治療や予防に使用することができる。

シクロペンテノン、シクロペンテノン誘導体、4HCP及び4HCP誘導体から選択される化合物は成長因子産生増強能及び／又はインターロイキン-12産生増強能を有し、これらの化合物を有効成分として成長因子産生増強を要する疾患及び／又はインターロイキン-12産生増強を要する疾患の治療剤又は予防剤

25

を製造することができる。また当該化合物を有効成分として筋肉増強剤を製造することができる。

治療剤又は予防剤としては、シクロペンテノン、シクロペンテノン誘導体、4 H C P 及び 4 H C P 誘導体から選択される化合物を有効成分とし、これを公知の医薬用担体と組合せ製剤化すればよい。一般的には、当該組成物を薬学的に許容できる液状又は固体状の担体と配合し、かつ必要に応じて溶剤、分散剤、乳化剤、緩衝剤、安定剤、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤等を加えて、錠剤、顆粒剤、散剤、粉末剤、カプセル剤等の固形剤、通常液剤、懸濁剤、乳剤等の液剤とすることができる。またこれを使用前に適当な担体の添加によって液状となし得る乾燥品とすることができる。

当該治療剤又は予防剤は、経口剤や、注射剤、点滴用剤等の非経口剤のいずれによっても投与することができる。

医薬用担体は、上記投与形態及び剤型に応じて選択することができ、経口剤の場合は、例えばデンプン、乳糖、白糖、マンニット、カルボキシメチルセルロース、コーンスターチ、無機塩等が利用される。また経口剤の調製に当っては、更に結合剤、崩壊剤、界面活性剤、潤沢剤、流動性促進剤、矯味剤、着色剤、香料等を配合することもできる。

一方、非経口剤の場合は、常法に従い当該治療剤又は予防剤の有効成分であるシクロペンテノン、シクロペンテノン誘導体、4 H C P 及び 4 H C P 誘導体から選択される化合物を希釈剤としての注射用蒸留水、生理食塩水、ブドウ糖水溶液、注射用植物油、ゴマ油、ラッカセイ油、ダイズ油、トウモロコシ油、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール等に溶解ないし懸濁させ、必要に応じ、殺菌剤、安定剤、等張化剤、無痛化剤等を加えることにより調製される。

本発明の治療剤又は予防剤は、製剤形態に応じた適当な投与経路で投与される。投与方法も特に限定はなく、内用、外用及び注射によることができる。注射剤は、例えば静脈内、筋肉内、皮下、皮内等に投与することができ、外用剤には座剤等も包含される。

治療剤又は予防剤としての投与量は、その製剤形態、投与方法、使用目的及びこれに適用される患者の年齢、体重、症状によって適宜設定され、一定ではない

が一般には製剤中に含有される有効成分の量が成人1日当り $10\mu\text{g} \sim 200\text{mg}/\text{kg}$ である。もちろん投与量は、種々の条件によって変動するので、上記投与量より少ない量で十分な場合もあるし、あるいは範囲を超えて必要な場合もある。本発明の薬剤はそのまま経口投与するほか、任意の飲食品に添加して日常的に摂取させることもできる。

本発明のシクロペンテノン、シクロペンテノン誘導体、4HCP及び4HCP誘導体から選択される化合物を有効成分として含有する成長因子産生増強剤及びインターロイキン-12産生増強剤は、上記の治療剤又は予防剤に準じ製造、投与することができる。当該成長因子産生増強剤及びインターロイキン-12産生増強剤は成長因子の増強方法に使用することができ、成長因子の機能研究や、成長因子に関連する医薬のスクリーニングに有用である。

本発明の成長因子産生増強剤としては、特に限定はないがHGF産生増強剤、NGF産生増強剤、h-IGF産生増強剤等が例示され、HGF産生増強、NGF産生増強、h-IGF産生増強を要する疾患の治療剤又は予防剤として使用することができる。

本発明のHGF産生増強剤の有効成分としては、シクロペンテノン、シクロペンテノン誘導体、4HCP及び4HCP誘導体から選択される化合物を使用すれば良く限定はないが、シクロペンテン環を有する化合物を使用することが好適である。またHGF遺伝子の転写を誘導し、HGFの産生を増強するサイトカイン類、プロスタグランジン類、例えばIL-1、プロスタグランジン E_1 、 E_2 等から選択される物質を本発明のHGF産生増強剤に含有させても良い。更に好適には、本発明のHGF産生増強剤がHGF遺伝子の転写を誘導するように作用するのであれば、本発明のHGF産生増強剤に、HGF遺伝子のmRNAの翻訳以降のステップを促進してHGFの産生を増強する作用のある物質を含有させることによって、HGF産生が相乗的に増強されるHGF産生増強剤が提供される。当該相乗効果を発現させる物質としては、HGF遺伝子のmRNAの翻訳以降のステップを促進してHGFの産生を増強する作用のある物質であればよく、特に限定はないが、ヘパリン、ヘパラン硫酸、フコイダン等の硫酸化多糖及びこれらの分解物が例示される。また、HGF産生増強作用を有する生姜等由来のショウガ

オール、ジンジャーオール、ウコン等由来のクルクミン等、又はこれらの含有物を本発明のHGF産生増強剤に含有させても良い。更に、本発明の成長因子産生増強剤及び／又はインターロイキン-12産生増強剤を任意の飲食品に添加して、日常的に摂取しても良い。

- 5 本発明のシクロペンテノン、シクロペンテノン誘導体、4HCP及び4HCP誘導体から選択される化合物を有効成分として含有する筋肉増強剤は、上記の治療剤又は予防剤に準じ製造、投与することができる。

- 10 シクロペンテノン含有物、シクロペンテノン誘導体含有物、4HCP含有物及び4HCP誘導体含有物から選択されるものを有効成分として含有、希釈及び／又は添加してなる成長因子産生増強用及び／又はインターロイキン-12産生増強用食品、又は成長因子産生増強用及び／又はインターロイキン-12産生増強用飲料の製造法は、特に限定はないが、調理、加工及び一般に用いられている食品又は飲料の製造法による製造を挙げることができ、製造された食品又は飲料に有効量の生理作用を有するシクロペンテノン含有物、シクロペンテノン誘導体含有物、4HCP含有物及び4HCP誘導体含有物から選択されるものが含有され
- 15 ていれば良く、成長因子産生増強作用及び／又はインターロイキン-12産生増強作用を有する機能性食品又は飲料とすることができる。

- 20 またシクロペンテノン含有物、シクロペンテノン誘導体含有物、4HCP含有物及び4HCP誘導体含有物から選択されるものを有効成分として含有、希釈及び／又は添加してなる筋肉増強用食品又は筋肉増強用飲料の製造法は、特に限定はないが、調理、加工及び一般に用いられている食品又は飲料の製造法による製造を挙げることができ、製造された食品又は飲料に有効量の生理作用を有するシクロペンテノン含有物、シクロペンテノン誘導体含有物、4HCP含有物及び4HCP誘導体含有物から選択されるものが含有されていれば良く、筋肉増強作用
- 25 を有する機能性食品又は飲料とすることができる。

本発明で使用するシクロペンテノン、シクロペンテノン誘導体、4HCP及び4HCP誘導体はその生理活性の有効量の投与を行っても毒性は認められない。またそれらの含有物も毒性は認められない。

例えば経口投与の場合、シクロペンテノン、GM、4HCP、ジプロピオニル

シクロペンテノン、ジヘキサノイルシクロペンテノン、ジ-2-ヘキセノイルシクロペンテノン、ジイソブチルシクロペンテノン、ジベンゾイルシクロペンテノン、4-*t*-ブチルシクロペンテノンエーテル、4, 5-ジ-*t*-ブチルシクロペンテノンエーテル若しくはこれらの光学活性体又はそれらの塩のいずれかを 100 mg/kg でマウスに単回投与しても死亡例は認められない。

実施例

以下、実施例を挙げて、本発明を更に具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例に何ら限定されるものではない。なお、実施例における%は重量%を意味する。

参考例 1

(1) 10 g の D-グルクロン酸 (シグマ社製 G 5269) を 1 リットルの水に溶解し、121℃で4時間加熱した後約 10 ml になるまで減圧下濃縮した。これに酢酸ブチル：酢酸：水=3：2：2 混合液の上層 40 ml を加えて混合後、遠心によって得た上清を減圧下約 10 ml まで濃縮した。

上記抽出液をカラムクロマトグラフィー用シリカゲル BW-300SP (2×28 cm、富士シリシア化学社製) にアプライし、酢酸ブチル：酢酸：水=3：2：2 の上層を溶離液としてコンプレッサーで 0.2 kg/cm² に加圧し、毎分 5 ml の流速で分離を行った。1 画分当り 10 ml になるようにフラクションを行い、各画分の一部をとって薄層クロマトグラフィーで分析したところ 61 番から 80 番までの画分に高純度のシクロペンテノンが含まれていた。これらの画分を集めて減圧下濃縮した後 40 ml のクロロホルムで抽出し、抽出液を減圧下濃縮することによって 100 mg のシクロペンテノンを得た。

この画分をパルパックタイプ S カラム (宝酒造社製) を用いた順相 HPLC で分離し、215 nm の紫外吸収で検出したところ、純度は 98% であった。

(2) シクロペンテノン 30 mg、ジメチルアミノピリジン (DMA P) 16 mg、トリエチルアミン 66 mg 及び無水プロピオン酸 (東京化成工業社製

P 0 5 1 3) 8 6 m g を 5 . 9 m l のジクロロメタンに溶解し、氷冷下 1 時間反応させた。この反応液をクロロホルム：メタノール＝2 0 0 ： 1 を展開溶媒としたシリカゲル薄層クロマトグラフィーによって展開し、 $R_f = 0.5 \sim 0.6$ の部分のシリカゲルを薄層から掻き取り、クロロホルムで抽出することによって 3 1 m g のジプロピオニルシクロペンテノンを得た。

得られたジプロピオニルシクロペンテノンの核磁気共鳴による構造解析結果を以下に示す。

$^1\text{H-NMR}$

δ 7 . 4 5 (1 H , d d , $J_{2-3} = 6.27 \text{ Hz}$, $J_{3-4} = 2.15 \text{ Hz}$, H - 3) 、 6 . 4 2 (1 H , d d , $J_{2-3} = 6.27 \text{ Hz}$, $J_{3-4} = 1.49 \text{ Hz}$, H - 2) 、 5 . 9 1 (1 H , m , H - 4) 、 5 . 1 6 (1 H , d , $J_{4-5} = 2.97 \text{ Hz}$, H - 5) 、 2 . 4 6 (2 H , d d , $J = 15.01$, 7.59 Hz) 、 2 . 4 2 (2 H , d d , $J = 15.01$, 7.59 Hz) 、 1 . 1 8 (6 H , d d , $J = 7.59$, 7.59 Hz)

(3) シクロペンテノンの 1 M 水溶液 1 0 0 μ l と 2 0 0 m M グルタチオン (還元型：ナカライテスク社販売：1 7 0 - 1 0) 水溶液 (p H 3 . 0) 5 0 0 μ l を混合し、6 0 $^{\circ}\text{C}$ で 5 時間反応させた。この反応液を 0 . 5 μ m コスモナイスフィルター (ナカライテスク社製) でろ過し、以下の条件で H P L C で分離した。

カラム：T S K g e l O D S - 8 0 T s (5 μ m) 、 2 0 m m \times 2 5 c m (東ソー社製)

移動相：A 0 . 1 % トリフルオロ酢酸 (T F A) 水溶液

B 0 . 1 % T F A / 5 0 % アセトニトリル水溶液

流速：7 . 5 m l / 分

グラジエント：1 0 分間移動相 A \rightarrow 5 5 分かけて移動相 A から A : B = 1 : 1 \rightarrow 1 5 分かけて移動相 A : B = 1 : 1 から移動相 B

検出：2 2 0 n m における吸光度

上記反応液 2 0 0 μ l を H P L C にかけ、保持時間 3 5 . 7 分、3 6 . 1 分の

ピークを分取し、それぞれ減圧下濃縮乾固し、乾固物 5.5 mg を得た。

この乾固物の構造を解析した。核磁気共鳴 (NMR) スペクトル、質量スペクトル (MS) を測定した。その結果を以下に示す。

^1H -NMR

5 δ 2.09 (2H, m, 5'-H), 2.28 (1H, dd, $J=13.0$,
20.0 Hz, 5-H), 2.44 (2H, m, 4'-H), 2.78 (1H,
dd, $J=8.5$, 14.0, 1'-H), 2.85 又は 2.89 (1H, dd,
 $J=3.0$, 6.0 Hz, 5-H), 2.92 又は 2.95 (1H, dd, $J=$
1.0, 5.5 Hz, 1'-H), 3.86 (2H, s, 9'-H), 3.95
10 (2H, m, 4-H, 6'-H), 4.46 (1H, m, 2'-H), 6.47
又は 6.49 (1H, d, $J=3.0$ Hz, 3-H)

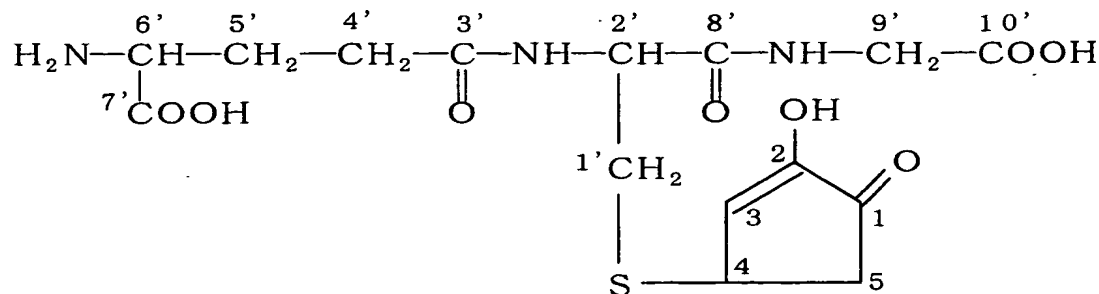
試料は 0.1 N DCl 重水溶液に溶解し、HOD の化学シフト値を 4.65 ppm として表した。

^{13}C -NMR

15 δ 26.3 (5'-C), 31.7 (4'-C), 31.9 又は 32.1
(1'-C), 39.3 (4-C), 41.9 (9'-C), 42.2 又は 42.
3 (5-C), 53.3 (6'-C), 54.1 (2'-C), 133.5 (3
-C), 154.4 (2-C), 173 付近 (3'-C, 7'-C, 8'-C,
10'-C), 205.8 (1-C)

20 試料は 0.1 N DCl 重水溶液に溶解し、ジオキサンの化学シフト値を 67
. 4 ppm として表した。

なお、 ^1H -NMR、 ^{13}C -NMR のピークの帰属の番号は下記式 (XIX) の
とおりである。



(X I X)

FAB-MS

5 m/z 404 (M+H)⁺, 426 (M+Na)⁺

グリセロールをマトリックスに用いた。

UV λ_{max} 251 nm (水)

IR ν_{KBr} max cm^{-1} 2949, 1710, 1660, 1539, 1404, 1203

10 拡散反射法によって行った。

以上の結果から、乾固物はGM、すなわち2-ヒドロキシ-4-グルタチオン-S-イル-2-シクロペンテン-1-オン (2-hydroxy-4-glutathion-S-yl-2-cyclopenten-1-one) であった。

15 (4) 5W/V% DNA・Na (株式会社ニチロ製) 水溶液のpHは6.5であった。これに希HClを加えて、pHを5.5に調整後、ヒートブロックにて、50、60、70、80、90、100、110及び120℃で3時間加熱処理をした。

20 加熱処理液の上清中の4HCPの濃度を、薄層クロマトグラフィー法で測定した。

すなわち、薄層クロマトグラフィー用シリカゲルプレート (MERCK社製) に、上記加熱処理物の上清及び2、4、6、8、10及び12mMの4HCP水溶液を、1 μ lずつスポットし、クロロホルム：メタノール=4：1の混合液で

展開した。オルシノール硫酸呈色試液で赤色に呈色させた後、プレートの画像を Photo/Analyst Archiver (Fotodyne inc.) で撮り込み、1-DBasic (Advanced American Biotechnology software) でスポットの強度を数値化して、4 HCPの検量線より各試料の濃度を求めた。

結果を図1に示す。すなわち図1は加熱温度と4 HCP生成量の関係を示す図であり、縦軸は4 HCP生成量 (mM)、横軸は加熱温度 (°C) を示す。図に示すように4 HCPの生成量は、加熱温度が高くなるにつれて増加した。

(5) 5 W/V% DNA・Na (株式会社ニチロ製) 水溶液に希HClを加えて、pHを5.5に調整後、オートクレーブにて、120°Cで0、1、3、5及び9時間加熱処理をした。

加熱処理液の上清中の4 HCPの濃度を、参考例1-(4)に記載の方法で測定した。

結果を図2に示す。すなわち図2は加熱時間と4 HCP生成量の関係を示す図であり、縦軸は4 HCP生成量 (mM)、横軸は加熱時間 (時間) を示す。図に示すように4 HCP生成量は、加熱3時間でピークに達した。

(6) 5 W/V% DNA・Na (株式会社ニチロ製) 水溶液に希HClを加えてpHを4.0、5.0、5.5、6.0に調整したもの、及び希NaOHを加えてpHを7.0に調整したものを、オートクレーブにて、120°Cで3時間加熱処理をした。

加熱処理物の上清中の4 HCPの濃度を、参考例1-(4)に記載の方法で測定した。

結果を図3に示す。すなわち図3はpHと4 HCP生成量の関係を示す図であり、縦軸は4 HCP生成量 (mM)、横軸はpHを示す。図に示すよう4 HCP生成量は、pH5付近をピークに増加した。

(7) 5 W/V% DNA・Na (株式会社ニチロ製) 水溶液に希HClを加

えて、pHを5.5に調整後、ヒートブロックにて、50、60、70、80、90、100、110及び120℃で3時間加熱処理をした。

加熱処理物の上清を逆相HPLC法にて分析した。分析条件は以下のとおりである。

5 カラム；YMC pack ODS-AM (φ4.6mm x 25cm、YMC社製)

移動相；3%アセトニトリル水溶液 0.8ml/min

検出；210nm

25分に溶出される4GCP及び33分に溶出される4ACPのピーク面積を
10 求め、各検量線より、各試料の濃度を求めた。

結果を図4及び図5に示す。すなわち図4は加熱温度と4ACP生成量の関係を示す図であり、縦軸は4ACP生成量(mM)、横軸は加熱温度(℃)を示す。図5は加熱温度と4GCP生成量の関係を示す図であり、縦軸は4GCP生成量(mM)、横軸は加熱温度(℃)を示す。

15 図4、図5に示すように4ACP及び4GCPは3時間加熱時100℃より生成が認められ、その生成量は加熱温度が高くなる程増加した。

(8) 5W/V% DNA・Na (株式会社ニチロ製) 水溶液に希HClを加えて、pHを5.5に調整後、オートクレーヴにて、120℃で0、1、3、5
20 及び9時間加熱処理をした。

加熱処理物の上清中の4ACP及び4GCPの濃度を、参考例1-(7)に記載の方法で測定した。

結果を図6及び図7に示す。すなわち図6は加熱時間と4ACP生成量の関係を示す図であり、縦軸は4ACP生成量(mM)、横軸は加熱時間(時間)を示す。図7は加熱時間と4GCP生成量の関係を示す図であり、縦軸は4GCP生成量(mM)、横軸は加熱時間(時間)を示す。
25

図6、図7に示すように4ACP及び4GCPは、共に3時間でピークに達し、その後減少した。

(9) 5W/V% DNA・Na (株式会社ニチロ製) 水溶液に希HClを加えてpHを4.0、5.0、5.5、6.0に調整したもの、及び希NaOHを加えてpHを7.0に調整したものを、オートクレーブにて、120℃で3時間加熱処理をした。

5 加熱処理物の上清中の4ACP及び4GCPの濃度を、参考例1-(7)に記載の方法で測定した。

結果を図8及び図9に示す。すなわち図8はpHと4ACP生成量を示す図であり、縦軸は4ACP生成量(mM)、横軸はpHを示す。図9はpHと4GCP生成量を示す図であり、縦軸は4GCP生成量(mM)、横軸はpHを示す。

図8、図9に示すように4ACP及び4GCPは、共にpH5付近をピークに増加した。

15 (10) 0.1M 2-デオキシ-D-リボース (シグマ社製) 水溶液を、121℃で0.5、1、2、4、15時間加熱処理した。

加熱処理物の上清を逆相HPLC法にて分析した。分析条件は以下のとおりである。

カラム; YMC pack ODS-AM (ϕ 4.6 mm x 25 cm、YMC社製)

20 移動相; A: 0.1% TFA水溶液

B: 0.1% TFA 80% アセトニトリル水溶液

流速; 0.8 ml/min

溶出; 移動層A (5分間) → 移動層AからBへの直線濃度勾配 (20分間) → 移動層B

25 検出; 215 nm

7分に溶出される4,5-ジヒドロキシー-2-ペンテナールのピーク面積を求め、検量線より、各試料の濃度を求めた。

結果を図10に示す。すなわち図10は加熱時間と4,5-ジヒドロキシー-2-ペンテナールの生成量を示す図であり、縦軸は4,5-ジヒドロキシー

2-ペンテナール生成量 (mM)、横軸は加熱時間 (時間) を示す。図 10 に示すように、5 時間の加熱で 4, 5-ジヒドロキシ-2-ペンテナールの生成量はプラトーに達した。

5 実施例 1

ラット繊維芽 L-M 細胞 (ATCC CCL-1.2) を 0.5% のバクトペプトン (ギブコ社製) を含む M199 培地 (ギブコ社製) で 1.0×10^5 細胞 / ml に懸濁し 24 穴プレートに 1 ml ずつまき無菌的に培養した。2 日間培養後、培地をとり除き、0.5% のウシ血清アルブミン (シグマ社製) を含む M199 培地に置き換えた。これにシクロペンテノン (終濃度 1 ~ 25 μ M)、4 HCP (アルドリッチ社製) (終濃度 12.5 μ M)、ジプロピオニルシクロペンテノン (終濃度 3.1 ~ 9.4 μ M) を添加し、24 時間培養した。

培養終了後、培養液中の神経成長因子の濃度をエンザイムイムノアッセイ法 (NGF Emax Immuno Assay System: プロメガ社製) にて測定した。結果、シクロペンテノン、4 HCP、ジプロピオニルシクロペンテノンは濃度依存的に L-M 細胞の神経成長因子産生を増強した。結果を表 1 ~ 表 4 に示す。

表 1 シクロペンテノンによる神経成長因子産生増強

シクロペンテノン濃度 (μ M)	神経成長因子濃度 (ng/ml)
0	0.570
1	0.700
2.5	0.740
5	0.870
7.5	0.900
10	1.080
12.5	1.340
15	1.550
17.5	2.150
20	1.900
25	1.540

表2 4HCPによる神経成長因子産生増強

4HCP濃度 (μ M)	神経成長因子濃度 (ng/ml)
0	0.138
12.5	0.327

表3 ジプロピオニルシクロペンテノンによる神経成長因子産生増強

ジプロピオニルシクロペンテノン濃度 (μ M)	神経成長因子濃度 (ng/ml)
0	0.132
3.1	0.164
6.3	0.259
9.4	0.257

5

表4 シクロペンテノンによる神経成長因子産生増強 (タイムコース)

シクロ ペンテノ ン 濃度 (μ M)	培養時間					
	0時間	3時間	6時間	12時間	24時間	48時間
	神経成長因子濃度 (ng/ml)					
0	0.000	0.028	0.233	0.575	0.658	0.736
15	0.000	0.050	0.359	0.686	1.186	1.236
17.5	0.000	0.054	0.205	0.635	1.535	1.492
20	0.000	0.082	0.179	0.581	1.681	1.874

さらに、これら以外のシクロペンテノン誘導体も同様にL-M細胞の神経成長因子産生を増強した。

10 実施例2

1×10^5 cells/mlとなるように10%牛胎児血清を含んだDME培地(バイオウィッタカー社製)に懸濁したMRC-5細胞(CCL171、大日本製薬社製)500 μ lを48穴の細胞培養プレートに入れ、37℃、5%CO₂存在下で24時間培養後に1%牛胎児血清を含んだDME培地に交換した。その後、試料を添加し、さらに24時間培養した後、培地を回収し、Quantikine

15

Human Hepatocyte Growth Factor (HGF) ELISA Kit (フナコシ社製) を用いて、
 培地中のHGFの量を測定した。HGFの生産量は、ネガティブコントロールを
 100%として表した。なお、ネガティブコントロールのHGFの生産量は、7.
 2 ng/ml であった。上記の試料は、それぞれ最終濃度が、シクロペンテノン
 は、20、40、160 μ M、GMは、20、40、80、160 μ M ジプロ
 ピオニルシクロペンテノンは、32、64 μ Mになるように添加した。ネガティ
 ブコントロールとして、試料と同量の蒸留水を添加した。ポジティブコントロー
 ルとして、プロスタグランジンE₁を、0.01、0.1、1、10 μ Mになる
 ように添加した。

その結果、シクロペンテノン及びその誘導体を添加した細胞群は全て、蒸留水
 添加のネガティブコントロールより有意にHGFの生産量が増加していた。さら
 に、ポジティブコントロールのプロスタグランジンE₁添加よりも顕著にHGF
 の生産量が増加していた。このことより、シクロペンテノン及びその誘導体には、
 これまでHGFの増強が確認されているプロスタグランジンより高いHGFの生
 産を増強する活性があることが示された。シクロペンテノン、GM及びジプロピ
 オニルシクロペンテノンを添加した結果をそれぞれ表5、表6、表7に示す。

表 5

シクロペンテノン濃度 (μ M)	HGFの生産量の増加 (%)
0	100
20	144
40	218
160	238

表 6

GM濃度 (μ M)	HGFの生産量の増加 (%)
0	100
20	154
40	179
80	243
160	319

表 7

ジプロピオニルシクロペンテノン濃度 (μ M)	HGFの生産量の増加
0	1 0 0
3 2	1 2 0
6 4	1 4 4

実施例 3

(1) ヒト新生児包皮上皮細胞株であるHs 6 8細胞(ATCC CRL-1
 5 6 3 5)を10%ウシ胎児血清(FBS:ギブコBRL社製)を含むD-MEM
 培地(バイオウィットカー社製)にて、5%CO₂存在下、37℃で細胞が培養
 器に飽和になるまで培養し、トリプシン-EDTA溶液(バイオウィットカー社
 製)で細胞を 3×10^5 個/mlとなるように上記培地に懸濁し、96穴マイク
 10 ロタイタープレート各ウェルに200 μ lずつ分注した。培養5日後、ほぼ細
 胞が培養器に飽和になった時点で培地を捨て、40、100又は200 μ Mの4
 HCPを含有する培地を加えた。96時間のタイムコースを取って、24時間ず
 つ経時的に培養上清を回収し、Hs 6 8細胞におけるヒトインスリン様増殖因子
 -1(h-IGF-1)産生増強に対する4HCPの影響をh-IGF-1のE
 LISA-Kit(ダイアグノスティックス システム ラボ 社製)を用いて
 15 測定した。その結果を表8に示した。

表 8

4HCP 濃度 (μ M)	培養時間			
	24時間	48時間	72時間	96時間
	h-IGF-1産生増強活性 (ng/ml)			
0	0	0	0	0
40	0	0	0	0
100	39.9	10.0	9.6	4.4
200	37.9	10.4	9.9	4.2

表8に示すように、Hs 6 8細胞において、100 μ M以上の4HCPを添加

した場合には、h-I G F 産生増強活性は24時間目に最大となり、それから経時的に減少した。

(2) H s 6 8細胞を10%ウシ胎児血清を含むD-MEM培地にて、5%CO₂存在下、37℃で培養器に飽和になるまで培養し、トリプシン-EDTA溶液で細胞を 3×10^5 個/mlとなるように上記培地に懸濁し、96穴マイクロタイタープレートの各ウェルに200μlずつ分注した。培養5~7日後、ほぼ細胞が培養器に飽和になった時点で培地を捨て、0、2.5、5、10、又は20μMのシクロペンテノン、又はGMを含有する上記培地を加えた。

48時間のタイムコースを取って、1、3、6、12、24、48時間で、経時的に培養上清を回収し、H s 6 8細胞におけるh-I G F-1産生（発現増強）に対するシクロペンテノン又はGMの影響をh-I G F-1のELISA-Kitを用いて測定した。

その結果、H s 6 8細胞において、10~20μMのGMを添加した場合は、添加後3時間からh-I G F-1が産生され、6時間後には無添加の対照と比べ、約2倍量のh-I G F-1が産生された。

また10~20μMのシクロペンテノンを添加した場合は、添加後1時間から6時間にかけて、h-I G F-1の産生が認められた。

(3) H s 6 8細胞を10%ウシ胎児血清を含むD-MEM培地にて、5%CO₂存在下、37℃で培養器に飽和になるまで培養し、トリプシン-EDTA溶液で細胞を 3×10^5 個/mlとなるように上記培地に懸濁し、96穴マイクロタイタープレートの各ウェルに200μlずつ分注した。培養5~7日後、ほぼ細胞が培養器に飽和になった時点で培地を捨て、0、25、50、100、又は200μMの4HCP、式(XVII)で表される化合物(4HCP-GSH)、又はグルタチオン(GSH)を含有する上記培地を加えた。48時間のタイムコースを取って、1、3、6、12、24、48時間で、経時的に培養上清を回収し、H s 6 8細胞におけるh-I G F-1産生（発現増強）に対する影響をh-I G F-1のELISA-Kitを用いて測定した。

その結果、Hs68細胞において、25～200 μ Mの4HCPを添加した場合は、早くも1時間目からh-IGF-1産生が最大となって、それから経時的に減少した。また、48時間目においてh-IGF-1発現は100 μ M以上の4HCPで処理した細胞で観察された。式(XVII)で表される化合物は、100～200 μ Mの濃度で、濃度依存的なh-IGF-1増強活性が確認された。これらの結果をそれぞれ表9及び表10に示す。なお、培養時間が10～30分のときも有意なh-IGF-1産生増強が認められた。一方、グルタチオン単独を添加した培地には有意なh-IGF-1増強活性が認められなかった。

表9 4HCPによるh-IGF-1産生の増強活性 (ng/ml)

4HCP添加量 (μ M)	培養時間					
	1時間	3時間	6時間	12時間	24時間	48時間
	IGF-1産生増強活性 (ng/ml)					
0	7.2	8.9	6.3	0	0	0
25	30.6	29.5	9.6	0	0	0
50	49.5	42.1	27.8	0	0	0
100	52.8	47.2	31	22.1	25.6	32
200	59.2	51.7	44.4	42.1	50.3	50.2

表10 4HCP-GSHによるh-IGF-1産生の増強活性 (ng/ml)

4HCP-GSH添加量 (μ M)	培養時間					
	1時間	3時間	6時間	12時間	24時間	48時間
	IGF-1産生増強活性 (ng/ml)					
0	7.2	8.9	6.3	0	0	0
100	8.4	12	10.6	6.1	6.7	1.4
200	33.3	37.9	24.7	20.4	20.9	27.8

実施例4

5週齢の雄性Wistar系ラットを用い、坐骨神経の圧挫により後肢筋の萎縮モデルを作製した。圧挫の2週間後に後肢腓腹筋を摘出して筋重量を測定し、圧挫肢側の筋重量を正常肢側に対する割合で表した。

10W/V% DNA・Na (株式会社ニチロ製) 水溶液に希HClを加えてpHを5に調整したものを、オートクレーブにて、120℃で3時間加熱処理し、

DNA加熱処理物を調製した。

調製したDNA加熱物の10倍水希釈液(4HCPとして約11mg/kg/日)および100倍水希釈液(4HCPとして約1mg/kg/日)を調製し、
5 圧挫の3日前から飲水中より摂取させた(N=9~10)。対照群には水道水を
与えた(N=10)。

その結果を表11に示す。表中の数字は、平均値±標準誤差を表す。表中の
*は対照群と比較して5%以下の危険率で有意な差を有することを意味する。

10 対照群では圧挫によって顕著な筋萎縮が惹起され、圧挫2週間後においてもほとん
ど回復は見られなかった。これに対し、DNA加熱物飲水投与群では用量依
存的に筋重量の回復を促進し、DNA加熱物の10倍希釈液飲水群では有意な筋
肉増量効果により対照群での筋萎縮状態を改善した。

表 1 1

	筋重量 (%) 平均値±標準誤差
対照群 (N=10)	49.0±2.58
DNA加熱物の100倍希釈液飲水群(N=9)	49.8±1.16
DNA加熱物の10倍希釈液飲水群(N=10)	58.2±2.64 *

*,p<0.05 vs対照群

15 実施例 5

(1) 注射剤

生理食塩液にシクロペンテノン又はGMを1%濃度で加え、注射剤を作製した。

(2) 錠剤

20 ジプロピオニルシクロペンテノン又は4HCPの100mgと微結晶性セルロ
ースの適量とを含有する錠剤を調製し、糖衣を施し、各錠剤を作製した。

参考例 6

25 ddYマウス(メス、5週齢、体重約25g)は日本エスエルシーより購入し、
1週間の予備飼育の後、実験に用いた。マウスの腹腔内に 1×10^6 cells

のイーリッヒがん細胞を接種し、接種1日後に10mg/kgのシクロペンテノンを腹腔内投与した。癌細胞接種から8日または12日後にマウスを断頭、放血死させ、対照群の腹水貯留量と同量(2ml)の1%牛血清アルブミン(シグマ社製)を含んだPBS(-)(日水製薬社製)をマウスの腹腔内に注入し、よくマッサージした後、回収した。対照群では腹水を直接回収した。回収した腹水および腹腔洗浄液は2000rpm、5分間遠心分離後、上清を回収してインターロイキン-12量をマウスインターロイキン-12測定用ELISAキット(エンドジェン社製)を用いて定量した。

がん細胞接種8日後、および12日後の各マウスの腹腔内インターロイキン-12量を表12に示す。がん細胞接種8日後の対照群では3例のマウス全てで検出限界以下であったのに対し、シクロペンテノン投与群では、各マウスにおいて、シクロペンテノンのインターロイキン-12の産生増強活性が認められ、局所のT細胞およびNK/LAK細胞が活性化された状態にあることが示された。また、がん細胞接種12日後においてもシクロペンテノン投与群では腹腔内にインターロイキンが確認され、免疫賦活による抗腫瘍効果が発現されていた。またシクロペンテノン誘導体も、同様に、インターロイキン-12産生増強活性を示した。

表12

	腹腔内インターロイキン-12量 (pg/ml)					
	対照群			シクロペンテノン投与群		
8日後	ND	ND	ND	11.0	100.0	25.0
12日後	全例死亡			43.0	97.2	66.4

ND: 検出限界以下

産業上の利用の可能性

本発明により成長因子産生増強活性及び/又はインターロイキン-12産生増強活性を示す化合物を有効成分として含有する成長因子産生増強を要する疾患及び/又はインターロイキン-12産生増強を要する疾患に有効な医薬が提供される。該医薬は、生体内におけるHGF産生増強活性、NGF産生増強活性、h-IGF産生増強活性、インターロイキン-12産生増強活性等を有し、肝炎、ア

ルツハイマー症、糖尿病、がん等のこれらの成長因子の産生増強を要する疾患及び／又はインターロイキン-1 2産生増強を要する疾患の治療剤又は予防剤として有用である。

5 更に、成長因子産生増強能及び／又はインターロイキン-1 2産生増強能を有するシクロペントノン含有物、シクロペントノン誘導体含有物、4HCP含有物、4HCP誘導体含有物から選択されるものを用いて飲食品を製造することが可能になり、日常の飲食品として摂取することにより、成長因子の産生増強を要する疾患及び／又はインターロイキン-1 2産生増強を要する疾患の症状改善等が可能となる。

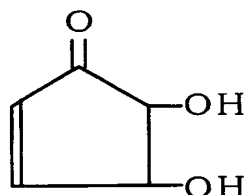
10 従って、シクロペントノン含有物、シクロペントノン誘導体含有物、4HCP含有物、4HCP誘導体含有物から選択されるものを有効成分とする機能性飲食品は、その成長因子産生増強作用及び／又はインターロイキン-1 2産生増強作用により、生体の恒常性の維持に有用な機能性飲食品である。

15 また、成長因子の産生増強剤及び／又はインターロイキン-1 2産生増強剤も提供され、当該増強剤は成長因子の機能研究、成長因子に関連する疾病用医薬のスクリーニングに有用である。

更に筋肉増強剤も提供され、神経圧迫に起因する疾患の治療にも有用である。

請 求 の 範 囲

1. 下記式 (I) で表される 4, 5-ジヒドロキシ-2-シクロペンテン-1-オン、4-ヒドロキシ-2-シクロペンテン-1-オン及びそれらの誘導体から選択される化合物を有効成分として含有することを特徴とする成長因子産生増強を要する疾患及び／又はインターロイキン-1 2 産生増強を要する疾患の治療剤又は予防剤。



(I)

2. 式 (I) で表される 4, 5-ジヒドロキシ-2-シクロペンテン-1-オン、4-ヒドロキシ-2-シクロペンテン-1-オン及びそれらの誘導体から選択される化合物を有効成分として含有することを特徴とする成長因子産生増強剤及び／又はインターロイキン-1 2 産生増強剤。

3. 式 (I) で表される 4, 5-ジヒドロキシ-2-シクロペンテン-1-オン含有物、4-ヒドロキシ-2-シクロペンテン-1-オン含有物、4, 5-ジヒドロキシ-2-シクロペンテン-1-オン誘導体含有物、4-ヒドロキシ-2-シクロペンテン-1-オン誘導体含有物から選択されるものを含有、希釈及び／又は添加してなる成長因子産生増強用及び／又はインターロイキン-1 2 産生増強用食品、又は成長因子産生増強用及び／又はインターロイキン-1 2 産生増強用飲料。

1/5

図 1

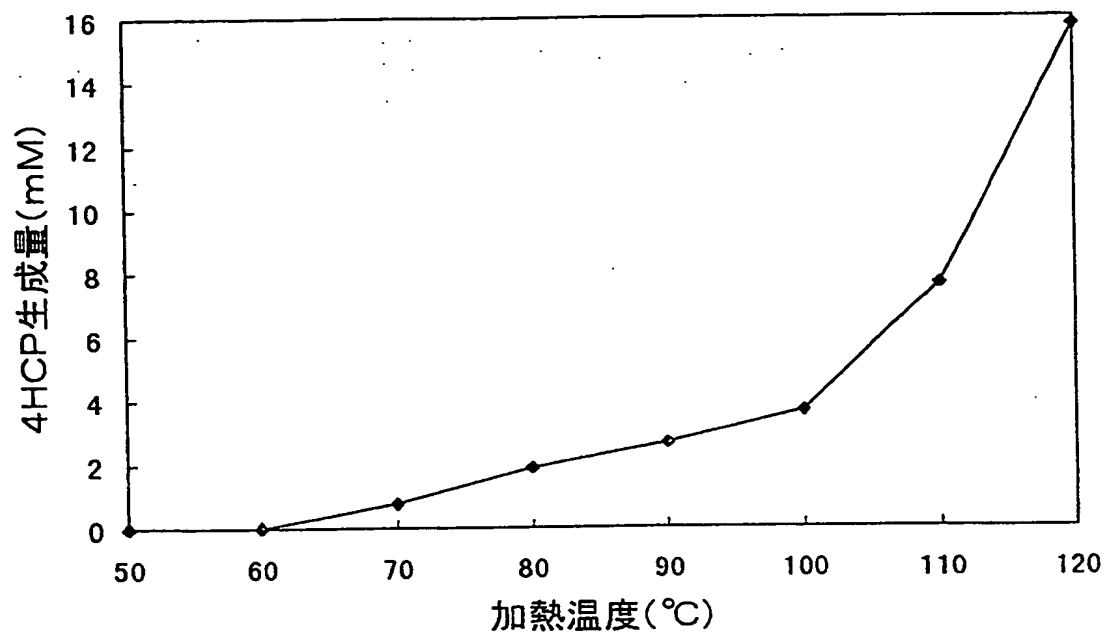
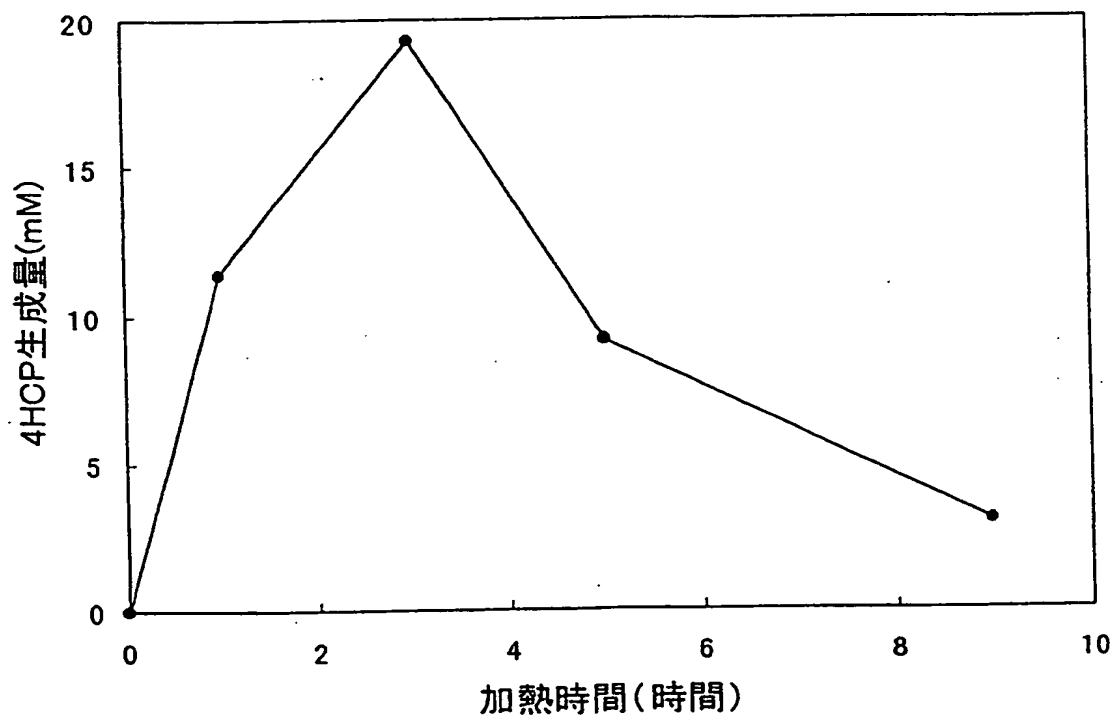


図 2



2/5

図 3

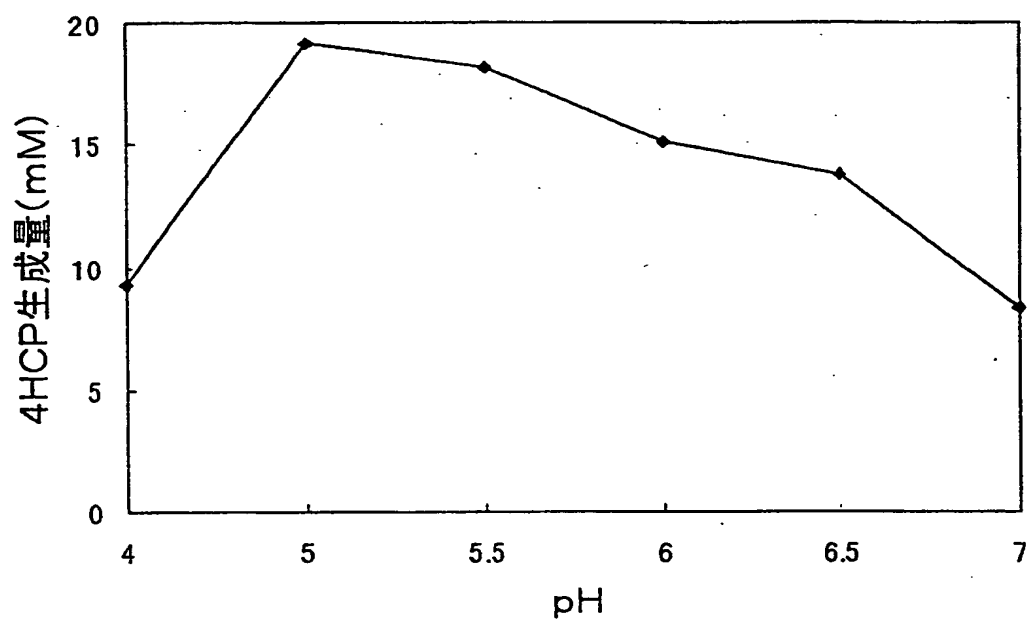


図 4

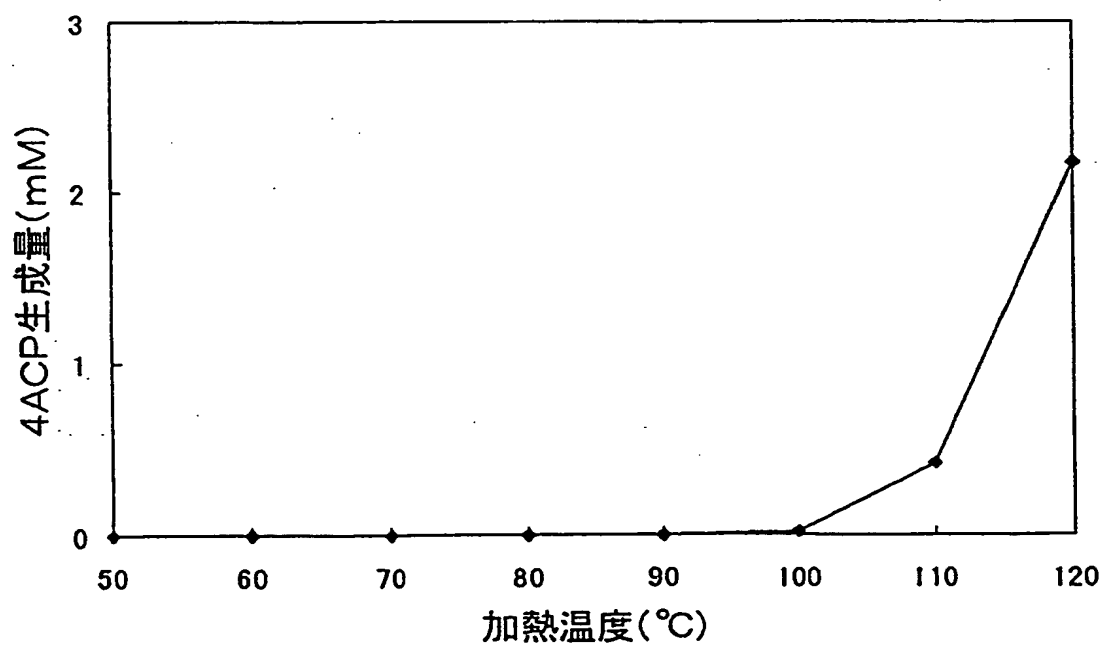


図 5

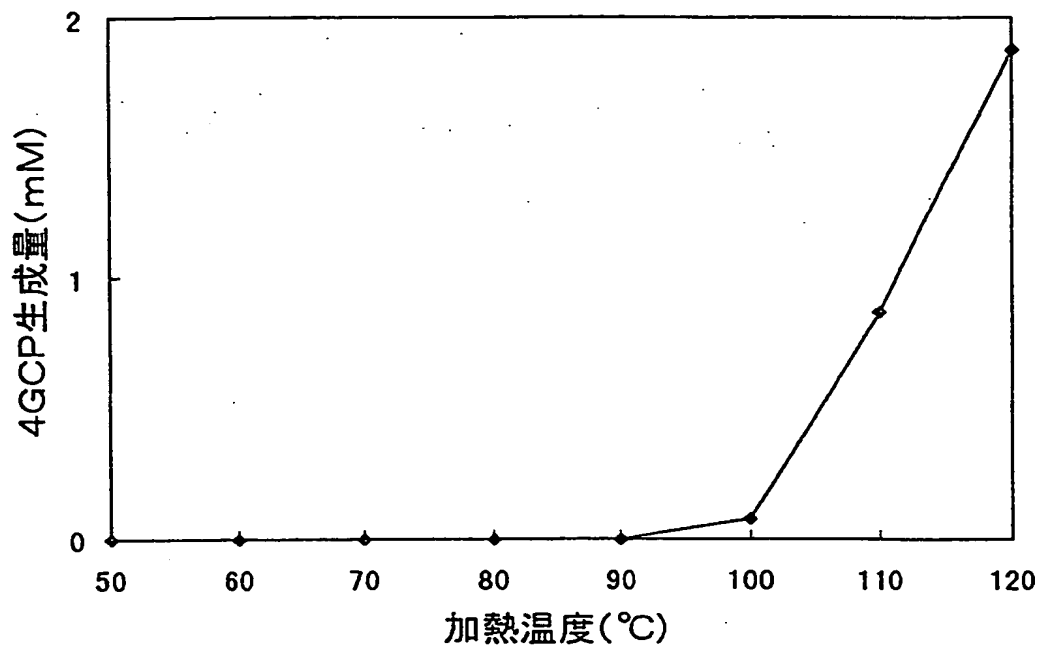
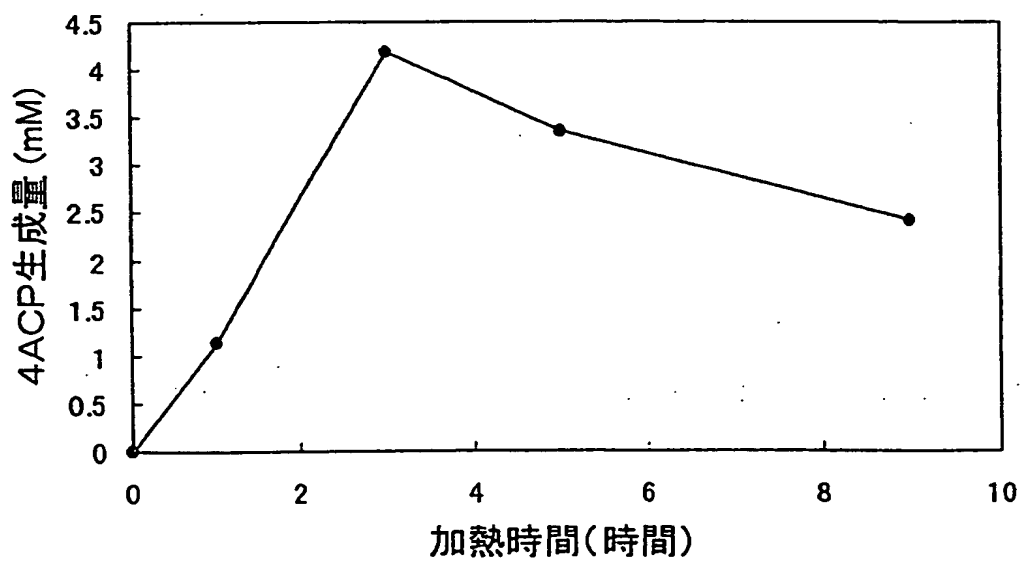


図 6



4/5

図 7

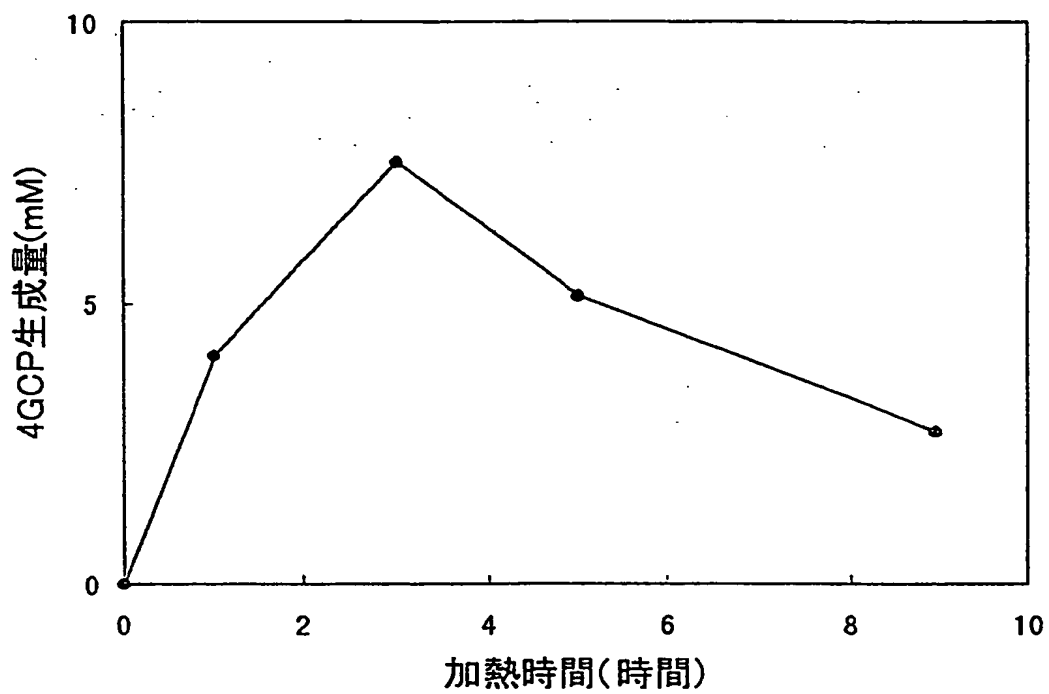
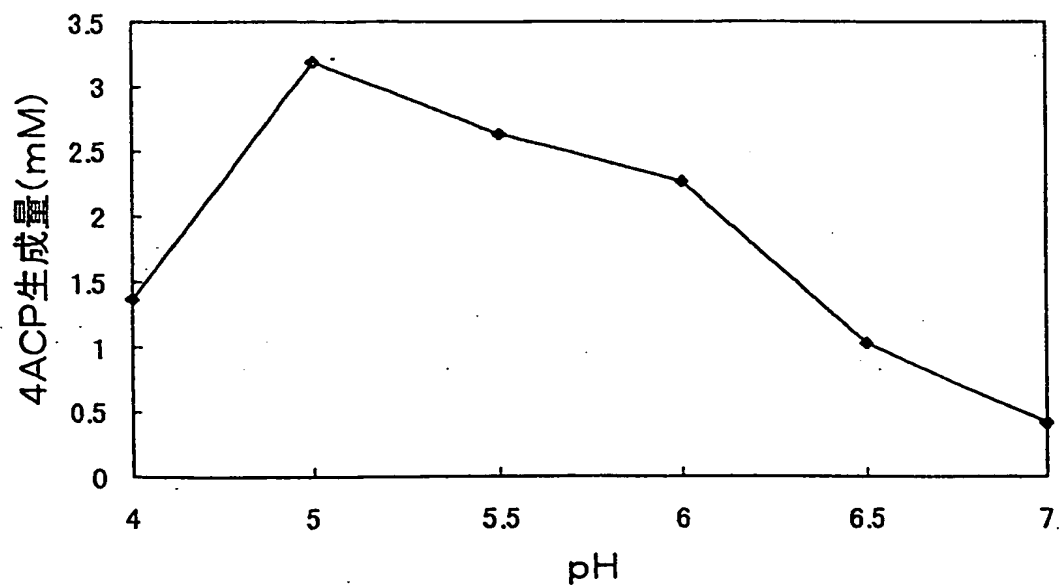


図 8



5/5

図 9

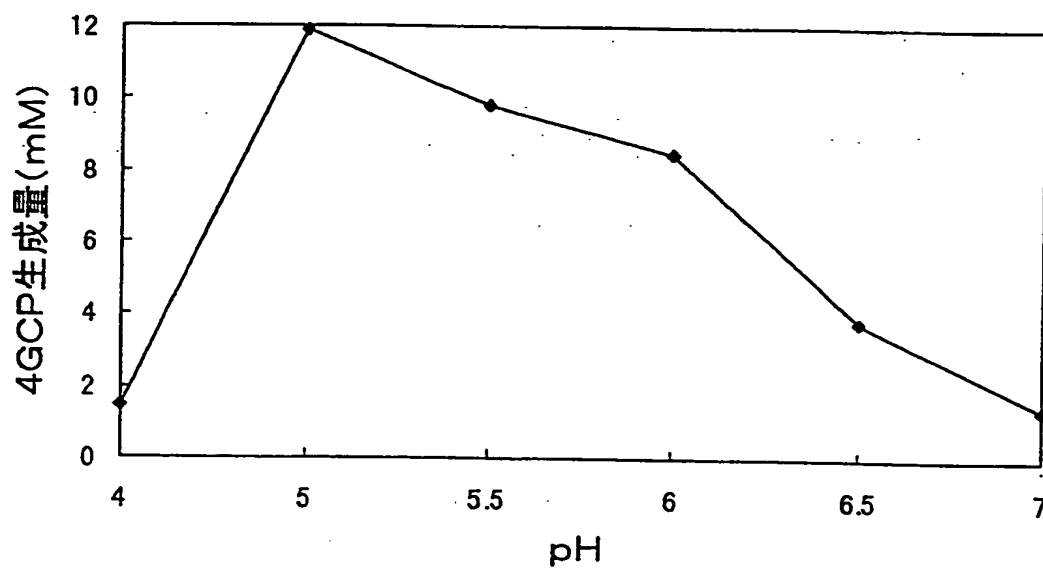
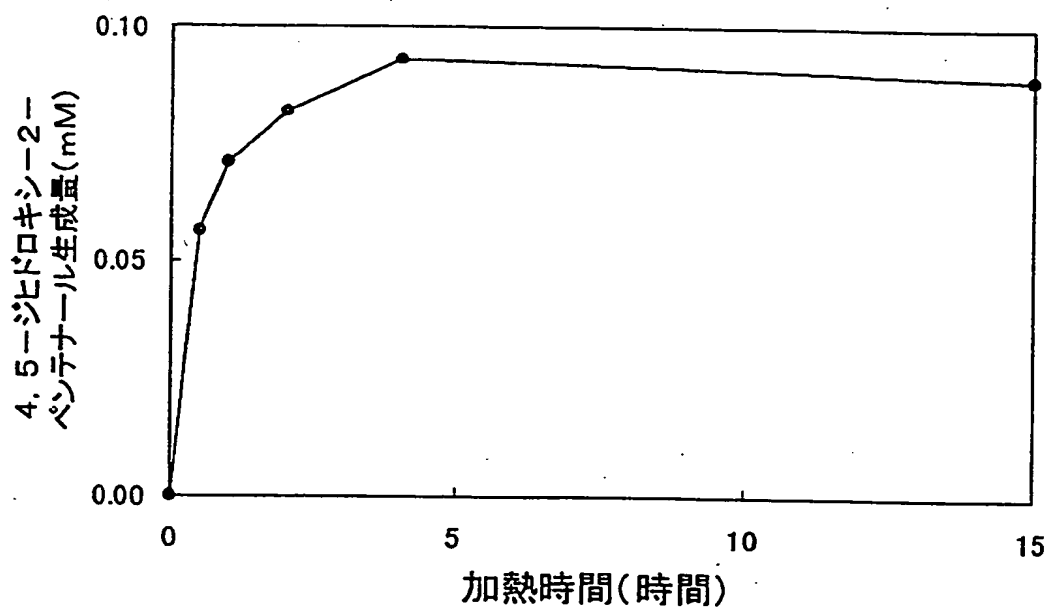


図 10



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/00787

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K31/122, A61P43/00, 1/16, 25/28, 3/10, 35/00,
A23L1/30, 2/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K31/122, A61P43/00, 1/16, 25/28, 3/10, 35/00
A23L1/30, 2/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CA (STN), REGISTRY (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO, 98/13328, A (Takara Shuzo Co., Ltd.), 02 April, 1998 (02.04.98) & AU, 9740330, A & EP, 941981, A1	1-3
X	WO, 98/39291, A (Takara Shuzo Co., Ltd.), 11 September, 1998 (11.09.98) & AU, 9861175, A & EP, 984001, A1	1-3
X	WO, 98/40346, A (Takara Shuzo Co., Ltd.), 17 September, 1998 (17.09.98) & AU, 9861177, A & EP, 976717, A	1-3
X	WO, 99/00349, A (Takara Shuzo Co., Ltd.), 07 January, 1999 (07.01.99) & AU, 9875516, A	1-3
PX	WO, 99/36383, A (Takara Shuzo Co., Ltd.), 22 July, 1999 (22.07.99) & AU, 9918903, A	1-3
EX	WO, 00/10560, A (Takara Shuzo Co., Ltd.), 02 March, 2000 (02.03.00) (Family: none)	1-2

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
28 April, 2000 (28.04.00)

Date of mailing of the international search report
16.05.00

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/00787

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☒ Claims Nos.: 1-3
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

Since the term "derivatives" is not clearly defined, it is unknown which compounds other than those particularly cited in the description fall within the category of the derivatives. Regarding "derivatives", therefore, the International Search has been practiced exclusively on those particularly cited in the description.

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/00787

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
EX	WO, 00/11021, A (Takara Shuzo Co., Ltd.), 02 March, 2000 (02.03.00) (Family: none)	1-2
A	Cancer Research, Vol. 54, (1994), Hideaki Tahara et al. "Fibroblasts Genetically Engineered to Secrete Interleukin 12 Can Suppress Tumor Growth and Induce Antitumor Immunity to a Murine Melanoma in vivo", p. 182-189	1-3
A	Diabetes, Vol. 45, (1996), Alan C. Moses et al. "Recombinant Human Insulin-Like Growth Factor I Increases Insulin Sensitivity and Improves Glycemic Control in Type II Diabetes", p. 91-100	1-3

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JPO0/00787

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl. A61K31/122, A61P43/00, 1/16, 25/28, 3/10, 35/00, A23L1/30, 2/00		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl. A61K31/122, A61P43/00, 1/16, 25/28, 3/10, 35/00 A23L1/30, 2/00		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの		
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) CA (STN), REGISTRY (STN)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	WO, 98/13328, A (寶酒造株式会社) 02. 4月. 1998 (02. 04. 98) &AU, 9740330, A &EP, 941981, A1	1-3
X	WO, 98/39291, A (寶酒造株式会社) 11. 9月. 1998 (11. 09. 98) &AU, 9861175, A &EP, 984001, A1	1-3
X	WO, 98/40346, A (寶酒造株式会社) 17. 9月. 1998 (17. 09. 98)	1-3
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日 28. 04. 00	国際調査報告の発送日 1 6.05.00	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 今村 玲 英 子 電話番号 03-3581-1101 内線 3452	

第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT 17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☐ 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2. ☒ 請求の範囲 1-3 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
「誘導体」について明確な定義がなされていないため、明細書に具体的に例示されたものの以外にどのようなものが誘導体に該当するかが不明である。したがって、「誘導体」に関し、明細書に具体的に例示されたものの以外については、国際調査を行っていない。
3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

C (続き) 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
	&AU, 9861177, A &EP, 976717, A	
X	WO, 99/00349, A (寶酒造株式会社) 07. 1月. 1999 (07. 01. 99) &AU, 9875516, A	1-3
PX	WO, 99/36383, A (寶酒造株式会社) 22. 7月. 1999 (22. 07. 99) &AU, 9918903, A	1-3
EX	WO, 00/10560, A (寶酒造株式会社) 02. 3月. 2000 (02. 03. 00) (ファミリーなし)	1-2
EX	WO, 00/11021, A (寶酒造株式会社) 02. 3月. 2000 (02. 03. 00) (ファミリーなし)	1-2
A	Cancer Research, Vol. 54, (1994), Hideaki Tahara et al. "Fibroblasts Genetically Engineered to Secrete Interleukin 12 Can Suppress Tumor Growth and Induce Antitumor Immunity to a Murine Melanoma in vivo", p. 182-189	1-3
A	Diabetes, Vol. 45, (1996), Alan C. Moses et al. "Recombinant Human Insulin-Like Growth Factor I Increases Insulin Sensitivity and Improves Glycemic Control in Type II Diabetes", p. 91-100	1-3



2000

100

100